

ABSORBABLE MICROPARTICLES**Publication number:** JP2002501908 (T)**Publication date:** 2002-01-22**Inventor(s):****Applicant(s):****Classification:**

- International: A61K38/00; A61K38/04; A61K38/22; A61K38/23;
A61K38/26; A61K47/34; A61K47/36; A61K47/48;
A61K9/22; A61K9/50; A61P43/00; A61K38/00; A61K38/04;
A61K38/22; A61K38/23; A61K38/26; A61K47/34;
A61K47/36; A61K47/48; A61K9/22; A61K9/50; A61P43/00;
(IPC1-7): A61K38/00; A61K38/04; A61K38/22; A61K38/23;
A61K38/26; A61K47/48; A61K9/50

- European: A61K47/48K4D; A61K47/48W8

Application number: JP20000529268T 19990120**Priority number(s):** US19980015394 19980129; WO1999US01180 19990120**Also published as:**

- JP3842042 (B2)
- WO9938536 (A1)
- US2006210641 (A1)
- TW255721 (B)
- RU2237471 (C2)
- PT1053020 (E)
- PL193111 (B1)
- NO20003810 (A)
- JP2005047928 (A)
- IL137388 (A)
- HU0101250 (A2)
- ES2217738 (T3)
- EP1053020 (A1)
- EP1053020 (B1)
- DK1053020 (T3)
- DE69916031 (T2)
- CN1289256 (A)
- CA2318152 (A1)
- AU2329199 (A)
- AT262926 (T)

<< less

Abstract not available for JP 2002501908 (T)

Abstract of corresponding document: **WO 9938536 (A1)**

This invention pertains to a sustained release complex of one or more peptides, one or more proteins or a combination thereof immobilized on an absorbable polymer microparticle optionally having an absorbable polymer coating. The microparticle complex of this invention comprises a peptide(s) and/or protein(s) which have at least one amino group and/or at least one carboxyl group per molecule and a solid absorbable polyester microparticle having surface and subsurface carboxylic group or amino groups in sufficient amounts to bind the peptide(s) and/or protein(s) so that the immobilized peptide(s) or protein(s) represent 0.1 % to 30 % of the total mass of the microparticle complex. The microparticle complex with immobilized peptide(s) and/or protein(s) are optionally further encased individually or in groups with an absorbable polymer to control, further, the release of the immobilized peptide(s) and/or protein(s). To control the release of the immobilized peptide(s) and/or protein(s) even further, the encased microparticles can be incorporated into a composition with an absorbable gel-forming liquid that transforms to a flexible gel or semi-solid upon contacting water in the biologic environment.

Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号
特表2002-501908
(P2002-501908A)

(43)公表日 平成14年1月22日(2002.1.22)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード*(参考)
A 6 1 K 38/00		A 6 1 K 9/50	4 C 0 7 6
9/50		47/48	4 C 0 8 4
38/22		37/02	
38/26		37/24	
38/23		37/28	

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 62 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2000-529268(P2000-529268)
(86) (22)出願日	平成11年1月20日(1999.1.20)
(85)翻訳文提出日	平成12年7月31日(2000.7.31)
(86)国際出願番号	PCT/US99/01180
(87)国際公開番号	WO99/38536
(87)国際公開日	平成11年8月5日(1999.8.5)
(31)優先権主張番号	09/015, 394
(32)優先日	平成10年1月29日(1998.1.29)
(33)優先権主張国	米国(US)

(71)出願人	ポリーメド・インコーポレーテッド アメリカ合衆国サウス・カロライナ州 29625, アンダーソン, ハイウェイ187 6309
(72)発明者	シャラビー, シャラビー・ワーバ アメリカ合衆国サウス・カロライナ州 29625, アンダーソン, ハイウェイ187 6309
(74)代理人	弁理士 社本一夫(外5名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 吸收可能なマイクロ粒子

(57)【要約】

本発明は持続放出複合体に関し、前記複合体は、吸收可能なポリマーコーティングを場合により有する吸收可能なポリマーマイクロ粒子上に固定化された一つ以上のペプチド、一つ以上のタンパク質又はそれらの組合せを含む。本発明のマイクロ粒子複合体は、一分子当たり少なくとも一個のアミノ基及び/又は少なくとも一個のカルボキシル基を有する一つ以上のペプチド及び/又は一つ以上のタンパク質ならびに当該一つ以上のペプチド及び/又は一つ以上のタンパク質を結合するのに足る量の表面及び表面下にカルボキシル基又はアミノ基を有する固体吸収可能なポリエステルマイクロ粒子を含み、その結果、固定化された一つ以上のペプチド又は一つ以上のタンパク質がマイクロ粒子複合体の全質量の0.1%~30%に相当する。固定化された一つ以上のペプチド及び/又は一つ以上のタンパク質を有するマイクロ粒子複合体は、場合によりさらに個々又は集団で吸収可能なポリマーで被包され、固定化された一つ以上のペプチド及び/又は一つ以上のタンパク質の放出をさらに調節する。固定化された一つ以上のペプチド及び/又は一つ以上の

タンパク質の放出をさらに調節するために、被包マイクロ粒子を、生物学的環境中の水と接触するとき軟質ゲル又は半固体に変態する吸収可能なゲル形成性液体と組成物中に配合することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 吸收可能なヘテロ鎖ポリマーコアと、当該吸收可能なヘテロ鎖ポリマーコア上に■定化された一つ以上のペプチド、一つ以上のタンパク質又はそれらの組合せとを含む結合マイクロ粒子であって、各ペプチドは、成長ホルモン放出ペプチド（G H R P）、黄体形成ホルモン放出ホルモン（L H R H）、ソマトスタチン、ボンベシン、ガストリン放出ペプチド（G R P）、カルシトニン、ブラジキニン、ガラニン、メラニン細胞刺激ホルモン（M S H）、成長ホルモン放出■子（G R F）、アミリン、タキキニン類、セクレチン、副■状腺ホルモン（P T H）、エンケファリン、エンドセリン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（C G R P）、ニューロメジン類、副■状腺ホルモン関連タンパク質（P T H r P）、グルカゴン、ニューロテンシン、副腎皮質刺激ホルモン（A C T H）、ペプチドYY（P Y Y）、グルカゴン放出ペプチド（G L P）、バソアクティブ・インテスティナル・ペプチド（V I P）、下垂体細胞アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド（P A C A P）、モチリン、サブスタンスP、ニューロペプチドY（N P Y）、T S H、並びにそれらの類似体及びフラグメント、又はそれらの製薬学的に許容しうる塩から独立して選ばれ；各タンパク質は、成長ホルモン、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激■子、顆粒球マクロファージコロニー刺激■子及びインターフェロンから独立して選ばれる、前記結合マイクロ粒子。

【請求項2】 前記ペプチド、タンパク質若しくはそれらの組合せ又はそれらの製薬学的に許容できる塩が、結合マクロ粒子全質量の0.1%～30%を含む、請求項1に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項3】 前記吸收可能なヘテロ鎖ポリマーコアがグリコール酸単位を含む、請求項2に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項4】 前記吸收可能なヘテロ鎖ポリマーコアがさらにクエン酸残基を含む、請求項3に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項5】 グリコール酸単位対クエン酸残基の比が約7：1～約20：1である、請求項4に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項6】 吸收可能なポリマーコアがさらに酒石酸残基を含む、請求項3に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項7】 グリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7：1～約20：1である、請求項6に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項8】 吸收可能なヘテロ鎖ポリマーコアがさらにリンゴ酸残基を含む、請求項3に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項9】 グリコール酸単位対リンゴ酸残基の比が約7：1～約20：1である、請求項8に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項10】 前記グリコール酸単位がカルボキシル成分で末端を形成する、請求項3に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項11】 前記グリコール酸単位がアミン成分で末端を形成する、請求項3に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項12】 吸收可能な被包用ポリマー内に被包された一つ以上の結合マイクロ粒子を含む被包マイクロ粒子であって、前記結合マイクロ粒子が吸收可能なヘテロ鎖ポリマーコアと、当該吸收可能なヘテロ鎖ポリマーコア上に■定化された一つ以上のペプチド、一つ以上のタンパク質又はそれらの組合せとを含み、各ペプチドは、成長ホルモン放出ペプチド(G H R P)、黄体形成ホルモン放出ホルモン(L H R H)、ソマトスタチン、ボンベシン、ガストリン放出ペプチド(G R P)、カルシトニン、ブラジキニン、ガラニン、メラニン細胞刺激ホルモン(M S H)、成長ホルモン放出■子(G R F)、アミリン、タキキニン類、セクレチン、副■状腺ホルモン(P T H)、エンケファリン、エンドセリン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド(C G R P)、ニューロメジン類、副■状腺ホルモン関連タンパク質(P T H r P)、グルカゴン、ニューロテンシン、副腎皮質刺激ホルモン(A C T H)、ペプチドYY(P Y Y)、グルカゴン放出ペプチド(G L P)、バソアクティブ・インテスティナル・ペプチド(V I P)、下垂体細胞アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド(P A C A P)、モチリン、サブスタンスP、ニューロペプチドY(N P Y)、T S H、並びにそれらの類似体及びフラグメント、又はそれらの製薬学的に許容しうる塩から独立して選ばれ；各タンパク質は、成長ホルモン、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激■子、顆粒球マクロファージコロニー刺激■子及びインターフェロンから独立して選ばれ、前記吸收可能なヘテロ鎖ポリマーコアが、グリコール酸単位を含む、前記被包マイ

クロ粒子。

【請求項13】 前記ペプチド、タンパク質若しくはそれらの組合せ又はそれらの製薬学的に許容できる塩が、結合マクロ粒子全質量の0.1%～30%を含み、前記吸收可能なヘテロ鎖ポリマー又はさらにクエン酸残基、酒石酸残基又はリンゴ酸残基を含む、請求項12に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項14】 グリコール酸単位対クエン酸残基、酒石酸残基又はリンゴ酸残基の比がそれぞれ約7：1～約20：1であり、前記グリコール酸単位がカルボキシル成分又はアミン成分で末端を形成する請求項13に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項15】 前記吸收可能な被包用ポリマーが、
 (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
 (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
 (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
 (d) 1-ラクチドベースの単位とd, 1-ラクチドベースの単位
 を含む、請求項14に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項16】 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75：25～約90：10である、請求項15に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項17】 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80：20である、請求項15に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項18】 d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比は約75：25～約90：10である、請求項15に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項19】 吸收可能な被包用ポリマーが被包マイクロ粒子の全質量の5～70%をなす、請求項14に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項20】 吸收可能な被包用ポリマーが被包マイクロ粒子の全質量の20～60%をなす、請求項19に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項21】 吸收可能な被包用ポリマーが被包マイクロ粒子の全質量の30～50%をなす、請求項20に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項22】 請求項1に記載の結合マイクロ粒子及び製薬学的に許容で

きるキャリアを含む医薬組成物。

【請求項23】 請求項1に記載の結合マイクロ粒子、非水性吸収可能なゲル形成性液体ポリエステル及び場合により製薬学的に許容できるキャリアを含む医薬組成物。

【請求項24】 請求項12に記載の被包マイクロ粒子及び製薬学的に許容できるキャリアを含む医薬組成物。

【請求項25】 請求項12に記載の被包マイクロ粒子、非水性吸収可能なゲル形成性液体ポリエステル及び場合により製薬学的に許容できるキャリアを含む医薬組成物。

【請求項26】 ペプチドがLHRH類似体である、請求項4に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項27】 前記吸収可能なヘテロ鎖ポリマーコアのグリコール酸単位対クエン酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記LHRH類似体が、p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂である、請求項26に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項28】 ペプチドがLHRH類似体である、請求項6に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項29】 グリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記LHRH類似体が、p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂である、請求項28に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項30】 ペプチドがソマトスタチン類似体である、請求項4に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項31】 グリコール酸単位対クエン酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記ソマトスタチン類似体が、H-β-D-Na1-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Va1-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか、N-ヒドロキシエチルピペラジニルーアセチル-D-Phen-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によ

って結合しているか又はN-ヒドロキシエチルピペラジニルーエチルスルホニル-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合している、請求項30に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項32】 ペプチドがソマトスタチン類似体である、請求項6に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項33】 グリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記ソマトスタチン類似体が、H-β-D-Nal-Cys-Thr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか、N-ヒドロキシエチルピペラジニルーアセチル-D-Phe-Cys-Thr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によつて結合しているか又はN-ヒドロキシエチルピペラジニルーエチルスルホニル-Phe-Cys-Thr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合している、請求項32に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項34】 吸收可能な被包用ポリマー内に被包されている請求項26に記載の一つ以上の結合マイクロ粒子を含む被包マイクロ粒子であつて、前記吸收可能な被包用ポリマーが、

- (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
- (d) 1-ラクチドベースの単位とd, 1-ラクチドベースの単位を含む、被包マイクロ粒子。

【請求項35】 前記吸收可能なポリマーコアのグリコール酸単位対クエン酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記LHRH類似体が、p-Glu-His-Trp-Ser-Thr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂であり、

- (a) 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75：2

5～約90：10であり、

(b) d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75：25～約90：10であり、そして

(c) 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80：20である、請求項34に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項36】 吸収可能な被包用ポリマー内に被包されている請求項28に記載の一つ以上の結合マイクロ粒子を含む被包マイクロ粒子であって、前記吸収可能な被包用ポリマーが、

- (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
- (d) 1-ラクチドベースの単位とd, 1-ラクチドベースの単位を含む、被包マイクロ粒子。

【請求項37】 前記吸収可能なポリマーコアのグリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記LHRH類似体が、p-Glu-His-Trp-Ser-Thyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂であり、

(a) 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75：25～約90：10であり、

(b) d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75：25～約90：10であり、そして

(c) 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80：20である、請求項36に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項38】 吸収可能な被包用ポリマー内に被包されている請求項30に記載の一つ以上の結合マイクロ粒子を含む被包マイクロ粒子であって、前記吸収可能な被包用ポリマーが、

- (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は

(d) 1-ラクチドベースの単位と d, 1-ラクチドベースの単位を含む、被包マイクロ粒子。

【請求項39】 前記吸収可能なポリマーコアのグリコール酸単位対ケエン酸残基の比が約7:1～約20:1であり、前記ソマトスタチン類似体が、H- β -D-Na1-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Va1-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか、N-ヒドロキシエチルピペラジニルーアセチル-D-Phen-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか又はN-ヒドロキシエチルピペラジニルーエチルスルホニル-Phen-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合し、

(a) 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25～約90:10であり、

(b) d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25～約90:10であり、そして

(c) 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80:20である、請求項38に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項40】 請求項32に記載の一つ以上の結合マイクロ粒子および吸収可能な被包用ポリマーを含む被包マイクロ粒子であって、前記吸収可能な被包用ポリマーが、

(a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
 (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
 (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
 (d) 1-ラクチドベースの単位とd, 1-ラクチドベースの単位を含む、被包マイクロ粒子。

【請求項41】 前記吸収可能なポリマーコアのグリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7:1～約20:1であり、前記ソマトスタチン類似体が、H- β -D-Na1-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Va1-Cys-Thr

—NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか、N-ヒドロキシエチルピペラジニルーアセチル-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか又はN-ヒドロキシエチルピペラジニルーエチルスルホニル-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合し、

(a) 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25~約90:10であり、

(b) d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25~約90:10であり、そして

(c) 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80:20である、請求項40に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項42】 結合マイクロ粒子を吸収可能な被包用ポリマーで被包する工程を含む、請求項12に記載の被包マイクロ粒子の製造法。

【請求項43】 前記吸収可能な被包用ポリマーと溶媒とを含む溶液中の前記結合マイクロ粒子からなる分散物を予備冷却した媒体中に滴下することを含み、当該媒体が前記吸収可能な被包用ポリマーの溶媒ではない、請求項42に記載の方法。

【請求項44】 前記吸収可能な被包用ポリマーの溶液が約5%~30%の当該吸収可能な被包用ポリマーから構成され、予備冷却した媒体が2個以上の炭素原子を有するアルコールであり、媒体の温度が室温~約-80°Cである、請求項43に記載の方法。

【請求項45】 前記予備冷却媒体の温度が約-60°C~-80°Cであり、媒体がイソプロピルアルコールである、請求項44に記載の方法。

【請求項46】 エマルション技術を使用して結合マイクロ粒子を吸収可能な被包用ポリマーで被包する工程を含む、請求項12に記載の被包マイクロ粒子の製造法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****発明の背景**

本発明は、吸收可能なポリマーマイクロ粒子（場合により、吸收可能なポリマーコーティングを有する）上に■定化された一つ以上のペプチド、一つ以上のタンパク質又はそれらの組合せの徐放性複合体に関する。本発明のマイクロ粒子複合体は、分子当たり少なくとも1個のアミノ基及び／又は少なくとも1個のカルボキシル基を有する一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質と、表面及び表面下のカルボン酸基又はアミノ基を一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質を結合するに足る量有し、その結果、■定化された一つ以上のペプチド又は一つ以上のタンパク質がマイクロ粒子複合体の全質量の0.1%～30%を示す。■定化された一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質をもつマイクロ粒子複合体は、場合により、個々に又は吸收可能なポリマーを持つ基でさらに被包され、■定化された一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質の放出をさらに制御する。■定化された一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質の放出をさらに制御するために、被包マイクロ粒子を、生物学的環境中の水と接触すると軟質ゲル又は半■体に変態する吸收可能なゲル形成性液体を含有組成物中に配合することができる。

【0002】

多くの薬物送達システムが開発され、試験されて薬剤組成物のインピボにおける制御放出に利用されている。例えば、ポリ(DL-乳酸)、ポリ(グリコール酸)、ポリ(ϵ -カプロラクトン)及び様々な他のコポリマー類のようなポリエステル類が、プロゲステロンのような生物学的に活性な分子の放出に使用してきた。これらはマイクロカプセル、フィルム又はロッドの形態であった (M. Chasin及びR. Langner、編集者、薬物送達システムとしての生分解性ポリマー(Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems)、Dekker, NY 1990)。ポリマー／治療薬組成物を、例えば皮下又は筋肉内に埋め込むと、治療薬が所定の時間にわたって放出される。このような生体適合性のある生分解性ポリマーシステムは、捉え込んだ治療薬をポリマーマトリックスか

ら拡散させるように設計されている。治療薬が放出されると、ポラー(poller)はインビボで分解するのでインプラントの外科的除去が不要となる。ポラーの分解に寄与する要■はよくわかつていないが、ポリエステルに関するそのような分解は、ポリマー成分の非酵素的自己触媒加水分解にエステル結合が利用されることで調節されているのだろうと考えられている。

【0003】

幾つかのEPO公報及び米■特許が、インビボにおける治療薬剤の放出の速度及び程度を調節することについてポリマーマトリックスの設計及びその役割の問題について取り扱ってきた。

【0004】

例えば、De Luca (EPO公開公報0467389 A2) は、疎水性の生分解性ポリマーとタンパク質又はポリペプチドとの物理的相互作用について記述している。形成された組成物は治療薬と患者の体内に導入後マトリックスから治療薬の拡散放出を持続させる疎水性ポリマーとの混合物であった。

【0005】

Hutchinson (米■特許第4,767,628号) は、治療薬の放出を、ポリマーデバイス中に均一に分散させることによって制御した。該製剤は、二相の重複によって制御された連続放出を提供すると開示されている。すなわち、第一相が製剤表面からの薬物の拡散依存性の浸出、第二相がポリマーの分解によって誘発される水性チャンネルによる放出である。

【0006】

その他の現場形成(in-situ forming)生分解性インプラント及びそれらの形成法は、Dunnらの米■特許第5,278,201号 ('201特許) 及び米■特許第5,077,049号 ('049特許) に記述されている。Dunnらの特許は、歯周ポケットにおける歯周組織の修復を補助し、歯根表面に沿った上皮細胞の移動を遅延させる方法を開示している。'049特許は、現場形成の生分解性バリアを歯の表面に隣接して配置することに関する方法を開示している。バリアは細孔性で、所定の大きさの孔を含んでおり、生物的に活性な薬剤を含有することができる。バリアの形成は、(約50%の典型的ポリマー濃度を達成する

ために) N-メチルピロリドンのような水混和性非毒性有機溶媒中ポリ(1-ラクチドーコーグリコリド)水凝性サーモプラスチックのような生分解性ポリマーの液体溶液を歯周ポケットに配置することによって達成される。有機溶媒は歯周液中に散逸し、生分解性水凝性ポリマーが現場で■体の生分解性インプラントを形成する。溶媒の散逸によって■体の生分解性インプラント内に孔が形成され、細胞の内部成長が促進される。⁸⁵⁹ 特許も、同様に、生分解性の硬化可能な熱硬化性プレポリマーと、硬化剤と、水溶性材料、例えば塩、砂糖、水溶性ポリマーとの液体混合物からの生分解性バリアの形成に関する同じ適応のための方法を開示している。硬化可能な熱硬化性プレポリマーは、アクリルーエステル末端の吸収可能なポリマーと記載されている。

【0007】

さらに、生物的に活性な化合物を様々な部位に制御送達するためのいくつかのシステムが文献に開示されている。例えば、Fujikawaらの米■特許第5,011,692号には、薬物を含有するポリマー材料層を含む持続性のパルス式放出製剤が開示されている。ポリマー材料層は、薬物を極微量含むか、全く含まない。貫層方向面に延びる全面を、水に不溶性のポリマー材料で被覆されている。このような型のパルス式放出薬剤投与形は皮下に埋め込むのに適している。

【0008】

Chesterfieldらの米■特許第5,366,756号は、多孔性の生体吸収性外科用インプラント材料の製造法を記載している。該製造法は、ある量の生体吸収性インプラント材料の粒子を提供し、生体吸収性インプラント材料を少なくとも一つの成長■子で被覆することを含む。該インプラントは抗菌剤を含むこともできる。

【0009】

Yamhiraらの米■特許第5,385,738号は、粉末の懸濁液を含む持続放出注入システムを開示している。粉末の懸濁液は、注入のために、粘性溶媒(例えば、植物油類、ポリエチレンジリコール、プロピレンジリコール、シリコーン油、及び中鎖脂肪酸トリグリセリド類)中、活性成分及び製薬学的に許容しうる生分解性担体(例えば、タンパク質類、多糖類、及び合成高分子量化合物

、好ましくは、コラーゲン、アテロコラーゲン、ゼラチン、及びそれらの混合物)を含む。製剤中の活性成分は生分解性担体中に以下の状態で配合される。(i) 活性成分が担体マトリックスに化学的に結合する;(ii) 活性成分が担体マトリックスに分子間作用によって結合する;又は(iii) 活性成分が担体マトリックス内に物理的に包含される。

【0010】

さらに、文献にある前述のようなシステム、例えばDunnら(米特許第4,938,763号)によるシステムは、N-メチル-2-ピロリドンのような有機溶媒中のポリマー溶液の凝■を通して、生体に生分解性の細孔性■体インプラントを現場形成する方法を教示している。しかしながら、低分子有機溶媒を含む溶媒の使用は、適用部位から溶液の移動を容易にし、それによって細胞の脱水や壞死など、生きた組織に損傷を生ずる。溶媒質量の損失は凝■物の萎縮と周辺組織からの分離を引き起こしかねない。

【0011】

米特許第5,612,052号は、標準的にはカルボキシルを持つポリエステル鎖で作られた陽イオン交換マイクロ粒子について記載している。これは、ポリエステル鎖上に塩基性の生物活性薬剤を■定化し、吸収可能なゲル形成液体ポリエステル内の制御放出システムを提供するものである。米特許第5,612,052号の内容は、参照により本発明に取り込まれる。カルボキシル含有物質と塩基性ポリペプチドとのイオン的な結合は、米特許第5,672,659号及び米特許第5,665,702号に記載されているように先行技術中に示されている。しかしながら、これらの複合体は、物理化学的特性を有する新規の化学物質として明確に定義されたイオン結合体を形成する■的で、■々の塩基性成分とカルボキシル成分をそれぞれの溶液中で分子的に反応させることによって形成された可溶性の化学物質である。これは、複合体形成が主として表面複合体形成に関連する不均一系で起こる本発明と相違する。

【0012】

発明の概要

本発明は、吸収可能なヘテロ鎖コアポリマーと、当該吸収可能なヘテロ鎖ポリ

マーコア上に■定化された一つ以上のペプチド、一つ以上のタンパク質又はそれらの組合せとを含む結合マイクロ粒子に関し、各ペプチドは、成長ホルモン放出ペプチド（G H R P）、黄体形成ホルモン放出ホルモン（L H R H）、ソマトスタチン、ボンベシン、ガストリン放出ペプチド（G R P）、カルシトニン、ブラジキニン、ガラニン、メラニン細胞刺激ホルモン（M S H）、成長ホルモン放出■子（G R F）、アミリン、タキキニン類、セクレチン、副甲状腺ホルモン（P T H）、エンケファリン、エンドセリン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（C G R P）、ニューロメジン類、副腎皮質刺激ホルモン（A C T H）、ペプチドYY（P Y Y）、グルカゴン放出ペプチド（G L P）、バソアクティブ・インテスティナル・ペプチド（V I P）、下垂体細胞アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド（P A C A P）、モチリン、サブスタンスP、ニューロペプチドY（N P Y）、T S H、並びにそれらの類似体及びフラグメント、又はそれらの製薬学的に許容しうる塩から独立して選ばれ；各タンパク質は、成長ホルモン、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激■子、顆粒球マクロファージコロニー刺激■子及びインターフェロンから独立して選ばれる。

【0013】

上述の好適な結合マイクロ粒子（グループBと表示する）は、前記ペプチド、タンパク質若しくはそれらの組合せ又はそれらの製薬学的に許容できる塩が結合マクロ粒子全質量の0.1%～30%を含む場合である。

【0014】

上述の好適な結合マイクロ粒子（グループCと表示する）は、前記吸収可能なヘテロ鎖ポリマーコアがグリコール酸単位を含む場合である。

上述の好適な結合マイクロ粒子（グループDと表示する）は、前記吸収可能なヘテロ鎖ポリマーコアがさらにクエン酸残基、酒石酸残基又はリンゴ酸残基を含む場合である。

【0015】

上述の好適な結合マイクロ粒子（グループEと表示する）は、グリコール酸単位対クエン酸残基、酒石酸残基又はリンゴ酸残基の比が約7：1～約20：1で

ある場合である。

【0016】

グループCの別の好適な結合マイクロ粒子はグリコール酸単位がカルボキシル成分で末端を形成する場合である。

グループCのさらに別の好適な結合マイクロ粒子はグリコール酸単位がアミン成分で末端を形成する場合である。

【0017】

別の態様では、本発明は吸收可能な被包用ポリマー内の一以上結合マイクロ粒子を含む被包マイクロ粒子を提供し、当該結合マイクロ粒子は吸收可能なヘテロ鎖コアポリマーと、当該吸收可能なヘテロ鎖ポリマーコア上に■定化された一以上のペプチド、一以上のタンパク質又はそれらの組合せとを含み、各ペプチドは、成長ホルモン放出ペプチド（G H R P）、黄体形成ホルモン放出ホルモン（L H R H）、ソマトスタチン、ボンベシン、ガストリン放出ペプチド（G R P）、カルシトニン、ブラジキニン、ガラニン、メラニン細胞刺激ホルモン（M S H）、成長ホルモン放出■子（G R F）、アミリン、タキキニン類、セクレチン、副■状腺ホルモン（P T H）、エンケファリン、エンドセリン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（C G R P）、ニューロメジン類、副■状腺ホルモン関連タンパク質（P T H r P）、グルカゴン、ニューロテンシン、副腎皮質刺激ホルモン（A C T H）、ペプチドYY（P Y Y）、グルカゴン放出ペプチド（G L P）、バソアクティブ・インテスティナル・ペプチド（V I P）、下垂体細胞アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド（P A C A P）、モチリン、サブスタンスP、ニューロペプチドY（N P Y）、T S H、並びにそれらの類似体及びフラグメント、又はそれらの製薬学的に許容しうる塩から独立して選ばれ；各タンパク質は、成長ホルモン、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激■子、顆粒球マクロファージコロニー刺激■子及びインターフェロンから独立して選ばれ、前記吸收可能なヘテロ鎖ポリマーコアはグリコール酸単位を含む。

【0018】

上述の好適な被包マイクロ粒子は、前記ペプチド、タンパク質若しくはそれらの組合せ又はそれらの製薬学的に許容できる塩が結合マクロ粒子全質量の0.1

%～30%を含み、前記吸収可能なヘテロ鎖ポリマーがさらにクエン酸残基、酒石酸残基又はリンゴ酸残基を含む場合である。

【0019】

上述の好適な被包マイクロ粒子（グループFと表示する）は、グリコール酸単位対クエン酸残基、酒石酸残基又はリンゴ酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記グリコール酸単位がカルボキシル成分又はアミン成分で末端を形成する場合である。

- (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
- (d) 1-ラクチドベースの単位とd, 1-ラクチドベースの単位

を含む場合である。

【0020】

上述の好適な被包マイクロ粒子は、1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75：25～約90：10であり、1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80：20であり、そしてd, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75：25～約90：10である場合である。

【0021】

グループFの好適な被包マイクロ粒子は、吸収可能な被包用ポリマーが被包マイクロ粒子の全質量の5～70%をなす。

上述の好適な被包マイクロ粒子は、吸収可能な被包用ポリマーが被包マイクロ粒子の全質量の20～60%をなす。

【0022】

上述の好適な被包マイクロ粒子は、吸収可能な被包用ポリマーが被包マイクロ粒子の全質量の30～50%をなす。

別の態様では、本発明は上述の結合マイクロ粒子と製薬学的に許容できるキャリアとを含む医薬組成物を提供することである。

【0023】

別の態様では、本発明は上述の結合マイクロ粒子、非水性吸収可能なゲル形成性液体ポリエステル及び場合により製薬学的に許容できるキャリアとを含む医薬組成物を提供することである。

【0024】

別の態様では、本発明は上述の被包マイクロ粒子と製薬学的に許容できるキャリアとを含む医薬組成物を提供することである。

別の態様では、本発明は上述の被包マイクロ粒子、非水性吸収可能なゲル形成性液体ポリエステル及び場合により製薬学的に許容できるキャリアとを含む医薬組成物を提供することである。

【0025】

グループDの別の好適な結合マイクロ粒子（グループGと表示する）は、吸収可能なヘテロ鎖ポリマーコアがクエン酸残基を含み、ペプチドがLHRP類似体である場合である。

【0026】

上述の好適な結合マイクロ粒子は、前記吸収可能なヘテロ鎖ポリマーコアのグリコール酸単位対クエン酸残基の比約7：1～約20：1であり、LHRH類似体がp-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂である場合である。

【0027】

グループDの別の好適な結合マイクロ粒子（グループHと表示する）は、吸収可能なヘテロ鎖ポリマーコアが酒石酸残基を含み、ペプチドがLHRH類似体である場合である。

【0028】

上述の好適な結合マイクロ粒子は、グリコール酸単位対酒石酸残基の比約7：1～約20：1であり、LHRH類似体がp-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂である場合である。

【0029】

グループDのさらに別の好適な結合マイクロ粒子（グループIと表示する）は

、吸収可能なヘテロ鎖ポリマーがクエン酸残基を含み、ペプチドがソマトスタン類似体である場合である。

【0030】

上述の好適な結合マイクロ粒子は、グリコール酸単位対クエン酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記ソマトスタン類似体が、H- β -D-Na1-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Va1-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか、N-ヒドロキシエチルピペラジニルーアセチル-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか又はN-ヒドロキシエチルピペラジニル-エチルスルホニル-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合している場合である。

【0031】

グループDのさらに別の好適な結合マイクロ粒子（グループJと表示する）は、吸収可能なヘテロ鎖ポリマーが酒石酸残基を含み、ペプチドがソマトスタン類似体である場合である。

【0032】

上述の好適な結合マイクロ粒子は、グリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記ソマトスタン類似体が、H- β -D-Na1-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Va1-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか、N-ヒドロキシエチルピペラジニルーアセチル-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか又はN-ヒドロキシエチルピペラジニル-エチルスルホニル-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合している場合である。

【0033】

本発明の好適な被包マイクロ粒子は吸收可能な被包用ポリマー内に被包されたグループGの一つ以上の結合マイクロ粒子を含む被包マイクロ粒子であり、吸收可能な被包用ポリマーが、

- (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
- (d) 1-ラクチドベースの単位とd, 1-ラクチドベースの単位

である。

【0034】

上述の好適な被包マイクロ粒子は、前記吸收可能なポリマーコアのグリコール酸単位対クエン酸残基の比が約7：1～約20：1であり、LHRH類似体がp-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂であり、

- (a) 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75：25～約90：10であり、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75：25～約90：10であり、そして
- (c) 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80：20

である場合である。

【0035】

別の好適な被包マイクロ粒子は吸收可能な被包用ポリマー内に被包されたグループHの一つ以上の結合マイクロ粒子を含み、当該吸收可能な被包用ポリマーが

- (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
- (d) 1-ラクチドベースの単位とd, 1-ラクチドベースの単位

を含む。

【0036】

上述の好適な被包マイクロ粒子は、前記吸収可能なポリマーコアのグリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7：1～約20：1であり、LHRH類似体がp-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂であり、

(a) 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75：25～約90：10であり、

(b) d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75：25～約90：10であり、そして

(c) 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80：20

である場合である。

【0037】

別の好適な被包マイクロ粒子は吸収可能な被包用ポリマー内に被包されたグループIの一つ以上の結合マイクロ粒子を含む被包マイクロ粒子であり、吸収可能な被包用ポリマーが、

- (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
- (d) 1-ラクチドベースの単位とd, 1-ラクチドベースの単位を含む。

【0038】

上述の好適な被包マイクロ粒子は、前記吸収可能なポリマーコアのグリコール酸単位対クエン酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記ソマトスタチン類似体が、H-β-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか、N-ヒドロキシエチルピペラジニル-アセチル-D-Phen-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか又はN-ヒドロキシエチルピペラジニル-エチルスルホニル-Phe-Cys-Tyr-D-

T r p - L y s - A b u - C y s - T h r - N H₂ であり、2個のC y s 残基がジスルフィド結合によって結合し、

- (a) 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25~約90:10であり、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25~約90:10であり、そして
- (c) 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80:20である場合である。

【0039】

別の好適な被包マイクロ粒子はグループJの一つ以上の結合マイクロ粒子及び吸收可能な被包用ポリマーを含み、当該被包用ポリマーが、

- (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
- (d) 1-ラクチドベースの単位とd, 1-ラクチドベースの単位を含む。

【0040】

上述の好適な被包マイクロ粒子は、前記吸收可能なポリマーコアのグリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7:1~約20:1であり、前記ソマトスタチン類似体が、H-β-D-N a 1-C y s-T y r-D-T r p-L y s-V a 1-C y s-T h r-N H₂ であり、2個のC y s 残基がジスルフィド結合によって結合しているか、N-ヒドロキシエチルピペラジニル-アセチル-D-P h e-C y s-T y r-D-T r p-L y s-A b u-C y s-T h r-N H₂ であり、2個のC y s 残基がジスルフィド結合によって結合しているか又はN-ヒドロキシエチルピペラジニル-エチルスルホニル-P h e-C y s-T y r-D-T r p-L y s-A b u-C y s-T h r-N H₂ であり、2個のC y s 残基がジスルフィド結合によって結合し、

- (a) 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25~約90:10であり、

(b) d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約7.5 : 2.5～約9.0 : 1.0であり、そして

(c) 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約8.0 : 2.0である場合である。

【0041】

別の態様では、本発明は上述の被包マイクロ粒子の製造法を提供し、当該方法は、結合マイクロ粒子を吸収可能な被包用ポリマーで被包する工程を含む。

上述の好適な方法は、前記吸収可能な被包用ポリマーと溶媒とを含む溶液中の前記結合マイクロ粒子の分散物を予備冷却した媒体に滴下することを含み、当該媒体が当該吸収可能な被包用ポリマーの溶媒でない場合である。

【0042】

上述の好適な方法は、前記吸収可能な被包用ポリマーの溶液が約5%～30%の吸収可能な被包用ポリマーから構成され、前記予備冷却媒体が2個以上炭素原子を持つアルコールであり、当該媒体の温度が室温～約-80°Cである場合である。

【0043】

上述の好適な方法は、前記予備冷却媒体の温度が約-60°C～-80°Cであり、当該媒体がイソプロピルアルコールである場合である。

さらに別の態様では、本発明は上述の被包マイクロ粒子の製造法を提供し、当該方法は、エマルション技術を使用して結合マイクロ粒子を吸収可能な被包用ポリマーで被包する工程を含む。

【0044】

詳細な記述

本明細書で使用している用語“吸収可能”とは、生物的環境中で鎖の解離を受けて水溶性の副産物になるポリマーのような水不溶性材料を意味する。

【0045】

本明細書で使用している用語“マイクロ粒子”とは、吸収可能なポリエステルの粒子（好ましくは本質的に球形）のことである。

本明細書で使用している用語“結合マイクロ粒子”とは、マイクロ粒子上に

イオン的に■定化された一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質を有するマイクロ粒子のことである。

【0046】

本明細書中で使用している用語“被包されたマイクロ粒子”とは、ポリマーのコーティングを有する結合マイクロ粒子のことであり、ポリマーコーティングは必ずしも完全に密閉性でなくてもよい。

【0047】

本明細書中で使用している用語“ポリマーコア”とは、マイクロ粒子の別の言い方である。

本明細書中で使用している用語“被包ポリマー”とは、結合マイクロ粒子を被包するのに使用されるポリマーのことである。

【0048】

本明細書中で使用している用語“ゲル形成液体ポリエステル”とは、水のような溶媒を吸収し、相転移を受け、可逆的変形が可能な三次元ネットワークを維持する材料のことである。

【0049】

本願においてはアミノ酸を当業者に公知の標準三文字略語を用いて示す。例えばA 1 a = アラニン。

本発明のマイクロ粒子は結晶性で、吸收可能なポリエステルで作られる。例えば個々の鎖上に一つ以上のカルボキシル基を有するポリグリコリドである。この結果、マイクロ粒子の表面上及びマイクロ粒子の表面直下に、一つ以上の塩基性基を有する一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質を結合しイオン的に■定化するに足る濃度のカルボキシル基がもたらされる。あるいは、ポリグリコリドのカルボキシル基は、例えばジアミン、好ましくは第一級もしくは第二級アミン又はそれらの混合物によってアミド化することもできる。この場合、アミンは、一つ以上の酸性基を有する一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質をイオン的に■定化する複合体を形成する。マイクロ粒子の表面は必ずしも均質でないので、用語“表面下”は、マイクロ粒子表面にみられる割れ■などのことをいう。結合マイクロ粒子は、患者の体内で一つ以上のペプチド及び／

又は一つ以上のタンパク質を制御放出するための手段を提供する。■定化された一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質の放出をさらに制御するために、結合マイクロ粒子を■々に又は集■で吸収可能なポリマーを用いて被包することができる。結合マイクロ粒子は、一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質を、患者の体内で約2■間～約3ヶ月間、好ましくは約1週間～約3ヶ月間にわたって放出する。被包されたマイクロ粒子は、一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質を、患者の体内で約3■間～約6ヶ月間、好ましくは約2週間～約5ヶ月間にわたって放出する。

【0050】

マイクロ粒子上に■定化されうるペプチドの典型例は、成長ホルモン放出ペプチド（G H R P）、黄体形成ホルモン放出ホルモン（L H R H）、ソマトスタチン、ボンベシン、ガストリン放出ペプチド（G R P）、カルシトニン、ブラジキニン、ガラニン、メラニン細胞刺激ホルモン（M S H）、成長ホルモン放出■子（G R F）、アミリン、タキキニン類、セクレチン、副■状腺ホルモン（P T H）、エンケファリン、エンドセリン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（C G R P）、ニューロメジン類、副■状腺ホルモン関連タンパク質（P T H r P）、グルカゴン、ニューロテンシン、副腎皮質刺激ホルモン（A C T H）、ペプチドY（P Y Y）、グルカゴン放出ペプチド（G L P）、バソアクティブ・インテスティナル・ペプチド（V I P）、下垂体細胞アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド（P A C A P）、モチリン、サブスタンスP、ニューロペプチドY（N P Y）、T S H、及びそれらの類似体並びにフラグメントなどであるがこれらに限定されない。マイクロ粒子上に■定化されうるタンパク質の例は、成長ホルモン、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激■子、顆粒球マクロファージコロニー刺激■子及びインターフェロンである。

【0051】

マイクロ粒子は、ラクチドベースのポリマー又は■体の半結晶性ポリラクトンから製造できる。例えば、グリコール酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸及びクエン酸のような、酸を持つヒドロキシル開始剤の開環重合によって形成できるポリグリコリドである。本発明のマイクロ粒子は以下の手順に従って合成できる。反応容

器中に、ラクチドベースのモノマー及び／又はラクトン（例えばグリコリド）と、酒石酸、リンゴ酸又はクエン酸のような開始剤を混合する。反応容器を約35～45℃、好ましくは40℃に温め、真空中に約20～60分間、好ましくは30分間置く。反応容器の温度を約105～115℃、好ましくは110℃に上げる。この温度に達したら、容器を酸素除去した窒素雰囲気下に置き、混合物を攪拌する。混合物が溶融したら、開環重合に適切な触媒量の有機金属触媒、例えばトルエンのような非プロトン性溶媒中2-エチルヘキサン酸第一スズ溶液を加える。再度、真空を約30～90秒間適用し、モノマーをあまり除去せずにトルエンを除去する。混合物の温度を約115～125℃、好ましくは120℃に5～10分間上げ、その後さらに約145～150℃に上げる。一定の機械的攪拌下でこの温度に約3～5時間、好ましくは4時間保った。

【0052】

得られたポリマーを、まずKnifeグラインダーを用いて粉碎することにより、微粉状にする。次にポリマーをAljet Micronizer中で加圧乾燥窒素流を用いて微粉状にする。平均粒径をMalvern Mastersizer/E中で体積分布モデルと分散剤として200/5 cSシリコーン油を用いて分析する。

【0053】

ポリマーを精製し、微粉化ポリマーをアセトンに分散し、ソニケーター(sonicator)中に好ましくは約30分間置くことによってそのナトリウム塩を形成する。この間、分散物はホモジナイザを用いて約8,000～24,000 rpm、好ましくは9,500 rpmでホモジナイズもされた。この音波処理／均質化ステップの後、分散物を約3,000～7,000 rpm、好ましくは5,000 rpmで好ましくは約30分間遠心機中で遠心分離する。上澄みを廃棄し、遠心分離ケーキを新鮮なアセトン中に再懸濁し、音波処理／均質化ステップを繰り返す。二回の遠心分離が完了したら、上澄みを廃棄し、ケーキを脱イオン水中に再懸濁した。次に、最後の音波処理／均質化ステップを1回実施して残りのアセトンをすべて除去し、分散物を再度約5,000 rpmで約30分間遠心分離する。

【0054】

遠心分離ケーキを新鮮な脱イオン水中に再懸濁し、分散物のpHをモニタする。0.2M炭酸ナトリウム溶液のような弱塩基を、pHをpH約8～pH約9に上げるに足る量攪拌しながら加える。分散物を約30分間攪拌した後、ろ紙上に真空ろ過する。ろ過ケーキをさらに脱イオン水で灌ぎ、凍結し、凍結乾燥させる。

【0055】

示差走査熱量測定法(DSC)により、加熱速度約5°C/分～15°C/分、好ましくは10°C/分で純度をモニタする。

陰イオン交換体マイクロ粒子は、陽イオン交換体マイクロ粒子を取り、それをジアミンの熱希釈溶液(～80°C)中でインキュベートすることによって得る。そのアミン部は、アルゴンのような不活性ガス下、ジオキサン又はTHF中公知濃度の、どちらも第一級アミン又はどちらも第二級アミン又は第一級アミンと第二級アミンとの混合であり得ることが好適である。ジオキサン又はTHF中のジアミン濃度は酸滴定によって測定する。反応が実質的に起こらなくなったら、アミド化されたマイクロ粒子をろ過によって分離し、ジオキサン又はTHFで灌ぎ、減圧下で乾燥する。

【0056】

一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質は、マイクロ粒子上に以下の方法に従って■定化できる。マイクロ粒子のナトリウム塩を、水に溶解した一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質の遊離塩基を含む溶液中に分散する。分散物を室温で攪拌しながら約2時間インキュベートした後、結合マイクロ粒子をろ過して取り出す。ろ過ケーキは、脱イオン水でさらに灌ぎ、凍結し、凍結乾燥させる。次にサンプルを元素分析によって窒素について分析し、■定化された一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質の量を測定する。

【0057】

マイクロ粒子の粒径は、本発明のマイクロ粒子が■定化できるペプチド及び／又はタンパク質の量に役割を果たしている。マイクロ粒子の粒径が小さければあ

る質量のマイクロ粒子の有する表面積は大きくなり、従ってより多くのペプチド及び／又はタンパク質がマイクロ粒子質量当たりに■定化できる。マイクロ粒子の粒径をミクロン又はミクロン未満の寸法に減少させるのは前述のようにして達成できる。マイクロ粒子の直径は、約 $0.5\text{ }\mu\text{m}$ ～ $100\text{ }\mu\text{m}$ 、好ましくは $1\text{ }\mu\text{m}$ ～ $15\text{ }\mu\text{m}$ 、更に好ましくは $3\text{ }\mu\text{m}$ ～ $10\text{ }\mu\text{m}$ の範■であり得る。

【0058】

吸収可能な被包ポリマーは、従来の有機溶媒、例えばクロロホルム、塩化メチレン、アセトン、アセトニトリル、酢酸エチル及びギ酸エチルに可溶な結晶性又は非結晶性のラクチド／グリコリドコポリマー、アモルファス1-ラクチド／d, 1-ラクチドコポリマー、カプロラクトン／グリコリドコポリマー又はトリメチレンカーボネート／グリコリドコポリマーである。これらの吸収可能な被包ポリマーの非溶媒は、水、低沸点アルコール類及び炭化水素類などである。吸収可能な被包ポリマーは、ラクトン類の接触開環重合、又はヒドロキシポリカルボン酸のような連鎖開始剤の存在下、 ϵ -カプロラクトン、p-ジオキサン、トリメチレンカーボネート、1, 5-ジオキセパン-2-オン又は1, 4-ジオキセパン-2-オンのような環状モノマーの重合によって合成できる。別 の方法は、有機ポリカルボン酸を予備形成したポリエステルと反応させることに関し、米■特許第5, 612, 052号に開示されている。この内容は参照により本発明に取り込まれる。

【0059】

結合マイクロ粒子の被包は、エマルションの相分離によって達成できる。別の被包方法には、超音波アトマイザを使用するものが含まれ、吸収可能な被包用ポリマー溶液中の結合マイクロ粒子分散物をマイクロ滴として冷却された非溶媒媒体中に導入する方法である。結合マイクロ粒子は、ラクチド及びグリコリドからなる吸収可能なコポリマーを用い、米■特許出願番号USSN: 08/467, 361号に開示されているような硫酸バリウムマイクロ粒子を被包するためのH. Demian及びS. W. Shalabyにより記載されたエマルション蒸発方法のような■体粒子の伝統的なマイクロカプセル化又は被覆技術を使用して被包される（当該特許出願を本明細書中に含める）。あるいは、ポリマー溶液中で

被包された■体マイクロ粒子の凝■を用いて吸収可能なラクチド及びグリコリドの被包コポリマーで被包され、超音波アトマイザ（ネブライザ）を通して被包用ポリマーの非溶媒である液体媒体中に送達される。しかし、ここで液体媒体の非溶媒は、被包■体マイクロ粒子周辺の被包用ポリマー溶液の溶媒を抽出することができる。マイクロ粒子を被包するポリマー溶液の濃度によって、被包マイクロ粒子中の元の結合マイクロ粒子の数は、被包マイクロ粒子の平均直径0.5 μm ~ 100 μmと共に1~数百の間で変化しうる。

【0060】

以下の方法は、噴霧(nebulization)による被包されたペプチド付加及び／又はタンパク質付加（以後ペプチド付加）陽イオン交換体の製造に関する。興味の対象である被包用コポリマーを、アセトニトリル、酢酸エチル又はギ酸エチルのいずれかの溶媒に10~30% (W/W) の濃度で溶解する。この溶液をペプチド付加C Eの分散に使用するが、その量はペプチド付加C E対被包コポリマーの重量比が約30:70~約80:20となるに足る量である。分散は高速均質化(homogenization)によって達成される。分散物は1ml/分~10ml/分の流量で超音波噴霧ノズルに可変周波数（この周波数は12kHz~35kHzで変化させることができる）で供給される。周波数が高ければ粒子特性は維持されつつ高流量が可能となる。このようにして分散物は、（用いられた被包用コポリマーの溶媒量に比べて）少なくとも1~10倍過剰のイソプロパノール又はエタノールからなる捕集シンク中に噴霧される。前記イソプロパノール又はエタノールは充分な量のドライアイスペレット（1リットルのIPA当たり通常0.5~1Kg）を含有し、その結果、スラリーの温度が噴霧の間に-70°C~-80°Cに保たれる。このスラリーは、体積によって300~700 rpmで攪拌される。溶媒がアセトニトリルの場合、噴霧滴はスラリーに接触するとすぐに凍結する。噴霧が完了すると、全分散物を10°C~室温で自然解凍させ、その後真空ろ過する。ろ過ケーキは脱イオン水で灌ぎ、過剰の非溶媒を除去する。得られた粒子の外観は、主にd, 1-ラクチドの被包コポリマーの場合滑らかな微小球（マイクロスフェア）で、被包コポリマーが主に1-ラクチドベースの場合、わずかに皺が寄っているように見える。

【0061】

マイクロ粒子イオン交換体の結合能は、以下のようにして測定できる。例えば、陽イオン交換体マイクロ粒子の場合、予め決められたマイクロ粒子質量中の利用可能なカルボキシル基を規定度のわかっている炭酸ナトリウムの冷希釀水溶液を用いて中和する。中和されたマイクロ粒子をろ過して単離し、冷脱イオン水を用いて完璧に灌ぐ。そして空気乾燥する。次に、■体のマイクロ粒子を既知濃度のピロカルピン塩酸塩の希釀溶液中でインキュベートし、結合能データから予測されるよりわずかに過剰の塩基性薬物を提供するようとする。水性媒体中の残りのピロカルピンHCl濃度を、マイクロ粒子による塩基の取込みに有意の変化が記録されなくなるまでの間モニタする。マイクロ粒子上に■定化された塩基のパーセントは消費データから決定し、次いで窒素についての元素分析によって確認する。

【0062】

陰イオン交換体（アミド化粒子）の結合能は、（1）窒素についての元素分析、及び（2）ナプロキセン（Naproxen）に結合する程度（HPLCを用いて希釀溶液から除去されるナプロキセンの程度を測定する）、によって測定される。後者は、既知濃度の希水酸化ナトリウム溶液を用いて■定化されたナプロキセンを放出させることによって確認される。

【0063】

本発明の結合マイクロ粒子又は被包マイクロ粒子は、当業者に周知の投与経路、例えば非経■投与、経■投与又は局所投与によって患者に投与できる。好ましくは、粉末又は懸濁液として鼻腔内経路によって、又は吸入剤として肺系を通じて投与される。非経■投与される場合、米■特許第5,612,052号明細書（その内容を参照として本明細書中に含める）に記載されているように、等張水性媒体中又は非水性の吸収可能ゲル形成性液体ポリエステル中の分散物として投与されるのが好ましい。本発明の結合マイクロ粒子及び／又は被包マイクロ粒子を含む製剤は種々の任意の成分も含有できる。このような成分には、界面活性剤、粘度調節剤、薬効成分、細胞成長調節剤、染料、錯生成剤、抗酸化剤、カルボキシメチルセルロースのようなその他のポリマー、ガーゴム、ひまし油のような

ワックス／油類、グリセリン、フタル酸ジブチル及びフタル酸ジ（2-エチルヘキシル）ならびに多くのその他のものがあるが、これらに限定されない。このような任意成分は、使用する場合、製剤の総量中約0.1%～約20%、好ましくは約0.5%～約5%含む。

【0064】

結合マイクロ粒子又は被包マイクロ粒子の、患者に投与されるべき有効投与量は、担当の医師又は獣医によって決定されてよく、また、一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質について考慮される適正な投与量並びにマイクロ粒子上に■定化された一つ以上のペプチド及び／又は一つ以上のタンパク質の量によって変化する。そのような投与量は当業者には公知であるか、又は当業者が決定することができる。

【0065】

米■特許第5,612,052号明細書にゲルフォーマーの製造が開示されている（その内容を参照として本明細書中に含める）。ゲルフォーマーの特定の例は以下の通りである。

【0066】

60/40トリメチレンカーボネート／グリコリド及びポリエチレングリコール-400の80/20（重量）ブロックコポリマーの製造（G F - 1）：攪拌器と窒素入り■とを備えた火炎乾燥樹脂ケトル(flame-dried resin kettle)にポリエチレングリコール400（0.99モル、119.5g）、第一錫オクトアート（トルエン中0.2M、4,700mL、0.946ミリモル）、グリコリド（1.78モル、206.5g）及びトリメチレンカーボネート（2.65モル、270g）を入れた。反応器をアルゴンで数■ページし、次いで、溶融するまで加熱し、次いで攪拌しながら約150℃まで約12時間加熱した。反応終了時、流動性を維持させながら温度を下げ、過剰のモノマーを減圧下で除去した。得られたポリマーを赤外線スペクトル及びNMRならびに分子量についてゲル浸透クロマトグラフィーにより分析した。

【0067】

60/40トリメチレンカーボネート／グリコリド及びポリエチレングリコ-

ルー400の15/85(重量) ブロックコポリマーの製造(GF-2)：表題のコポリマーをGF-1について記載した手順に従って合成したが、ポリエチレングリコール400(1.063モル、425g)、第一錫オクトアート(トルエン中0.2M、1,760ml、0.35ミリモル)、グリコリド(0.279モル、32.4g)及びトリメチレンカーボネート(0.418モル、42.6g)を使用し、約9時間攪拌した。

【0068】

90/10トリメチレンカーボネート/グリコリド及びポリエチレングリコール-1500の80/20(重量) ブロックコポリマーの製造(GF-3)：表題のコポリマーをGF-1について記載した手順に従って合成したが、ポリエチレングリコール1500(0.267モル、400g)、第一錫オクトアート(トルエン中0.2M、1,200ml、0.247ミリモル)、グリコリド(0.097モル、11.2g)及びトリメチレンカーボネート(0.87モル、88.7g)を使用し、約13時間攪拌した。

【0069】

実施例I

陽イオン交換体(C-E)として使用される、クエン酸で開始されたポリ(グリコール酸)ポリマー(PGCA)の製造、微粉化、及び精製

実施例I (a)：7/1 PGCA-500mlのガラス製反応容器に、242.63gのグリコリド(Purac Biochem, Arkelsedijk、オランダ)と57.37gのクエン酸(Aldrich, Gillingham, Dorset, U.K.)を入れた。クエン酸は、Abderhalden装置(Aldrich, ミズーリ州セントルイス, USA)中でシリカゲル(Fisher Scientific, Loughborough, Leics., U.K.)上でさらに乾燥させてあった。反応容器を約40°Cの油浴中に浸漬し、約30分間真空下(0.04mbar)に置いた。次に浴を下げてその温度を約110°Cに上げた。この温度に達した後、反応容器を酸素除去した窒素雰囲気下に置き、再浸漬した。内容物は、Heidolph phスター(Heidolph Elektro GmbH, Kelheim, ドイツ)を用いて約10

0 rpmで攪拌した。反応容器の内容物が溶融したら、トルエン（Riedel de-Haen, Seelze, ドイツ）中0.1M 2-エチルヘキサン酸第一スズ溶液（Sigma, ミズーリ州セントルイス, USA）1.09mlを加えた（化学量論比50 ppm）。液体窒素トラップ経由で約30秒間再度真空を適用し、モノマーをあまり除去することなくトルエンを除去した。次に油浴温度を約5分間約120°Cに上げ、その後さらに約150°Cに上げた。約100rpmという一定の機械的攪拌下で約4時間この温度に保った。標記ポリマーを得た。

【0070】

実施例I (b) : 10/1 P G C A—実施例I aの手順に従って標記ポリマーを得た。ただし、257.40gのグリコリド、42.60gのクエン酸、及び1.10mlのトルエン中0.1M 2-エチルヘキサン酸第一スズ溶液（化学量論比50 ppm）を使用した。

【0071】

実施例I (c) : 15/1 P G C A—機械的スタラーとアルゴン入■を備えた火炎乾燥樹脂ケトルに、グリコリド（2.586mol e、300g）、無水クエン酸（0.172mol e、33g）、及び2-エチルヘキサン酸第一スズ（トルエン中0.2M、862ml、0.172mmol e）を充填した。重合反応容器とその内容物は乾燥アルゴンで数■ページした。重合充填物の溶融後、反応物を加熱し、ポリマーが溶融物から析出するまで約160°Cで攪拌した。部分析出後攪拌はすぐにやめた。反応は約160°Cで約2時間続けた。重合の最後に温度を120°C未満に下げ、過剰のモノマーを減圧下で除去した。単離したポリマーの組成は赤外分光法とNMRを用いて確認した。

【0072】

微粉化—実施例I (a)、I (b) 及びI (c) の各ポリマーを、まずKnifeグラインダー（IKA, Staufen, ドイツ）を用いて粉碎した。次に、加圧乾燥窒素流を用いてAl jet Micronizer（Fluid Energy Al jet, Plumsteadsville、ペンシルベニア州、USA）中で微粉化した。実施例I (a) は、体積分布モデルと分散剤として

200/5 cS シリコーン油 (Dow Corning, Seneffe、ベルギー) を用いたMalvern Mastersizer/E (Malvern, Worcs., U.K.) 中での分析で、粒子の平均直径が24.84 μmであった。実施例I (b) とI (c) の粒子の平均直径は微粉化後それぞれ4.69 μm及び6.31 μmであった。

【0073】

精製/ナトリウム塩の形成—実施例I (a)、I (b) 及びI (c) の50gずつを2Lのアセトン (Riedel de-Haen, Seelze, ドイツ) 中に分散し、ソニケーター (Branson Ultrasonics BV, Soest、オランダ) に約30分間入れた。この間、分散物はUltraturrax T25ホモジナイザ (IKA, Staufen, ドイツ) を用いて約9,500 rpmでホモジナイズもした。この音波処理/均質化ステップの後、分散物をSorvall遠心機 (Sorvall, Wilmington、デラウェア州、USA) 中で約5,000 rpmで約30分間遠心分離した。上澄みを廃棄し、遠心分離ケーキを新鮮なアセトン中に再懸濁して、音波処理/均質化ステップを繰り返した。二■■の遠心分離が完了したら、上澄みを廃棄し、ケーキを脱イオン水中に再懸濁した。次に最後の音波処理/均質化ステップを1■実施して残りのアセトンをすべて除去した。分散物は再度約5,000 rpmで約30分間遠心分離した。

【0074】

遠心分離ケーキを新鮮な脱イオン水中に再懸濁し、分散物のpHをモニタした。0.2M炭酸ナトリウム溶液を、pHをpH約8～pH約9に上げるに足る量それに（攪拌しながら）加えた。分散物を約30分間攪拌した後、Whatman no. 1 (直径24cm)ろ紙 (Whatman Int'l. Ltd., Maidstone, ケント州, U.K.) 上に真空ろ過した。ろ過ケーキをさらに脱イオン水で灌ぎ、凍結し、Edwards SuperModulyo Lyophilizer (Edwards, Crawley, ウェストサセックス州, U.K.) で凍結乾燥させた。

【0075】

加熱速度10°C/分で、TA DSC912S (TA Instrument s, New Castle、デラウェア州、U.S.A) を用いて示差走査熱量測定法 (DSC) により純度をモニタした。各例について得られたDSCサーモグラムはモノマーのグリコリドについての吸熱ピークを何ら示さず、実施例I (a)、I (b) 及びI (c) について、それぞれ176°C、178°C及び180°Cの吸熱を示した。

【0076】

実施例II

グリコリド／リンゴ酸コポリマーPGMAのマイクロ粒子陽イオン交換体の製造
標記マイクロ粒子を実施例I (c) に記載の方法に従って合成したが、ただし
グリコリド (2.586 mol e、300 g)、無水リンゴ酸 (0.172 mol e、23 g) 及び2-エチルヘキサン酸第一スズ (トルエン中 0.2 M、86.2 ml、0.172 mmol e) を使用した。示差走査熱量測定法を用いてポリ
マーの融点を測定した ($T_m = 206^\circ\text{C}$)。

【0077】

Wileyミルを用いて團塊ポリマーを粉碎し、平均の粒子直径約125 μm を達成した。粒径をさらに直径約5～10 μmに減少させるのは、加圧乾燥窒素を取り入れるジェットミルを用いて達成した。得られたマイクロ粒子をアセトンで灌ぎ微量のモノマーと低分子量オリゴマーを除去した。次に生成物を、使用するまで減圧下40°Cで乾燥させた。乾燥マイクロ粒子の平均直径は粒径アナライザを用いて測定した。

【0078】

実施例III

陽イオン交換体 (CE) として使用される、酒石酸で開始されたポリ(グリコール酸)ポリマー (PGTA) の製造、微粉化、及び精製

実施例III (a) : 10/1 PGTA-500mlのガラス製反応容器に、
264.65 gのグリコリド (Purac Biochem, Arkelsedijk、オランダ) と34.22 gのL-酒石酸 (Riedel de-Haen, Seelze, ドイツ)を入れた。酒石酸は、Abderhalden装置

(Aldrich, ミズーリ州セントルイス) 中でシリカゲル (Fisher Scientific, Loughborough, Leics., U.K.) 上でさらに乾燥させてあった。反応容器を約40°Cの油浴中に浸漬し、約30分間真空下 (0.04 mbar) に置いた。次に浴を下げてその温度を約110°Cに上げた。この温度に達した後、反応容器を酸素除去した窒素雰囲気下に置き、再浸漬した。内容物は、Heidolphスター (Heidolph Elektro GmbH, Kelheim, ドイツ) を用いて約100 rpmで攪拌した。反応容器の内容物が溶融したら、トルエン (Riedel de-Haen, Seelze, ドイツ) 中 0.1M 2-エチルヘキサン酸第一スズ溶液 (Sigma, ミズーリ州セントルイス, USA) 1.14 mlを加えた (化学量論比 50 ppm)。液体窒素トラップ経由で約30秒間再度真空を適用し、モノマーをあまり除去することなくトルエンを除去した。次に油浴温度を約5分間約120°Cに上げ、その後さらに約150°Cに上げた。約100 rpmという一定の機械的攪拌下で約4時間この温度に保った。標記ポリマーを得た。

【0079】

微粉化—実施例III (a) をまずKnifeグラインダー (IKA, Staufen, ドイツ) を用いて粉碎した。次に、加圧乾燥窒素流を用いてAl jet Micronizer (Fluid Energy Al jet, Plums teadsville, ペンシルベニア州, USA) 中で微粉化した。これによって、体積分布モデルと分散剤として200/5 cS シリコーン油 (Dow Corning, Seneffe、ベルギー) を用いたMalvern Mastersizer/E (Malvern, Worcs., U.K.) 中での分析で、粒子の平均直径 12.42 μmを得た。

【0080】

精製/ナトリウム塩の形成—実施例III (a) の50 g分を2 Lのアセトン (Riedel de-Haen) 中に分散し、ソニケーター (Branson Ultrasonics BV, Soest、オランダ) に約30分間入れた。この間、分散物はUltraturrax T25 ホモジナイザ (IKA, Staufen, ドイツ) を用いて約9,500 rpmでホモジナイズも行った。

この音波処理／均質化ステップの後、分散物を Sorvall 遠心機 (Sorvall, Wilmington、デラウェア州、U.S.A.) 中で約 5,000 rpm で約 30 分間遠心分離した。上澄みを廃棄し、遠心分離ケーキを新鮮なアセトン中に再懸濁して、音波処理／均質化ステップを繰り返した。二回の遠心分離が完了したら、上澄みを廃棄し、ケーキを脱イオン水中に再懸濁した。次に最後の音波処理／均質化ステップを 1 回実施して残りのアセトンをすべて除去した。分散物は再度約 5,000 rpm で約 30 分間遠心分離した。

【0081】

遠心分離ケーキを新鮮な脱イオン水中に再懸濁し、分散物の pH をモニタした。0.2 M 炭酸ナトリウム溶液を、pH を pH 約 8 ~ pH 約 9 に上げるに足る量加えた。分散物を約 30 分間攪拌した後、Whatman no. 1 (直径 24 cm)ろ紙 (Whatman Int'l. Ltd., Maidstone, ケント州, U.K.) 上に真空ろ過した。ろ過ケーキをさらに脱イオン水で灌ぎ、凍結し、Edwards SuperModulyo Lyophilizer (Edwards, Crawley, ウエストサセックス州, U.K.) 中で凍結乾燥させた。

【0082】

加熱速度 10 °C / 分で、TA DSC912S (TA Instruments, New Castle、デラウェア州、U.S.A.) を用いて DSC により純度をモニタした。得られた DSC サーモグラムはモノマーのグリコリドについての吸熱ピークを何ら示さず、181 °C で吸熱を示した。

【0083】

実施例 III (b) : 15 / 1 P G T A - 標記ポリマーを実施例 I (c) に記載の手順に従って合成した。ただし、グリコリド (2.586 mol e, 300 g)、無水酒石酸 (0.172 mol e, 26.8 g) 及び 2-エチルヘキサン酸第一スズ (トルエン中 0.2 M, 86.2 ml, 0.172 mmol e) を使用した。示差走査熱量測定法を用いてポリマーの融点を測定した ($T_m = 204^\circ\text{C}$)。

【0084】

Wileyミルを用いて■体ポリマーを粉碎し、平均の粒子直径約125μmを達成した。粒径をさらに直径約5～10μmに減少させるのは、加圧乾燥窒素を取り入れるジェットミルを用いて達成した。得られたマイクロ粒子をアセトンで濯ぎ、微量のモノマーと低分子量オリゴマーを除去した。次に生成物を、使用するまで減圧下約40℃で乾燥させた。乾燥マイクロ粒子の平均直径は粒径アナライザを用いて測定した。

【0085】

実施例IV

ポリグリコリドベースのマイクロ粒子陰イオン交換体(AE-1)の製造

陰イオン交換体の製造は二段階で達成される。第一に、低分子量のポリグリコリドを実施例I(c)と同様の手順を用いて製造する。ただし以下の重合用充填物を使用する。すなわち、グリコリド(1mol、116g)、開始剤として1,3-プロパンジオール(30mmol、2.22g)及び2-エチルヘキサン酸第一スズ(0.03mmol)である。次に、ポリマーの粒径減少と精製を実施例I(c)にも記載されているように実施する。第二のステップで、実質的に非イオン性マイクロ粒子をジアミン、例えばジオキサン中公知濃度のヘキサンジアミンの熱希釈溶液(～80℃)中、アルゴン下でインキュベートする。ジオキサン中のジアミン濃度は酸滴定によって測定する。反応が実質的に起こらなくなったら、アミド化マイクロ粒子をろ過によって分離し、ジオキサンで濯ぎ、減圧下で乾燥させる。陰イオン交換体(アミド化粒子)の結合能は、(1)窒素についての元素分析、及び(2)ナプロキセンに結合する程度(HPLCを用い、希釈溶液から除去される薬物の程度を測定する)、によって測定される。後者は、公知濃度の水酸化ナトリウム希釈溶液で■定化されたナプロキセンを放出させることによって確認される。

【0086】

実施例V

被包材料として使用される、プロパンジオールで開始されたポリ(ラクチド-コ-グリコリド)コポリマー(PLGPD)の製造

実施例V(a) : 75/25 P(1) LGPD-500m1のガラス製反応

容器に、235.01 gの1-ラクチド（Purac Biochem, Arkel sedijk、オランダ）、63.09 gのグリコリド（Purac Biochem, Arkel sedijk、オランダ）、及び1.90 gのプロパンジオール（Riedel de-Haen, Seelze, ドイツ）を入れ、次いでトルエン（Riedel de-Haen, Seelze, ドイツ）■0.1 Mの2-エチルヘキサン酸第一スズ溶液（Sigma, ミズーリ州セントルイス、U.S.A.）3.96 mlを加えた（化学量論比200 ppm）。真空下で約1時間乾燥してトルエンを除去した後、反応容器を酸素除去窒素雰囲気下に置き、約160°Cに予熱した油浴に浸漬した。反応容器の内容物は、Heidolph phスター（Heidolph ph Elektro GmbH, Kelheim, ドイツ）を用い約100 rpmで攪拌した。内容物が溶融したら、温度を約180°Cに上げ、この温度を約3時間維持した。アモルファスコポリマーが得られた。該コポリマーは分子量（MW）約12,500 g/molを有することが、Waters 510 Pump、Wyatt Minidawn Light Scattering Detector（Wyatt Technology Corporation, カリフォルニア州サンタバーバラ、U.S.A.）による光散乱検出を用いるWaters 410 Differential Refractometer（示差屈折計）（Waters, Milford, マサチューセッツ州、U.S.A.）によるゲル透過クロマトグラフィー（GPC）によってわかった。

【0087】

実施例V (b) : 90/10 P (1) L G P D—標記生成物を実施例V (a) の手順に従って合成した。ただし、274.31 gの1-ラクチド、24.55 gのグリコリド、1.14 gのプロパンジオール、及びトルエン■0.1 Mの2-エチルヘキサン酸第一スズ溶液3.89 ml（化学量論比200 ppm）を用いた。結晶性コポリマーが得られた。該コポリマーはGPCにより分子量約20,780 g/molを有することがわかった。

【0088】

実施例V (c) : 90/10 P (d, 1) L G P D—標記生成物を実施例V

(a) の手順に従って得た。ただし、274.31 gのd, 1-ラクチド、24.55 gのグリコリド、1.14 gのプロパンジオール、及びトルエン中0.1 Mの2-エチルヘキサン酸第一スズ溶液3.86 ml（化学量論比200 ppm）を用いた。アモルファスコポリマーが得られた。該コポリマーはGPCにより分子量約20, 650 g/molを有することがわかった。

【0089】

実施例V (d)：被覆材料として使用される、プロパンジオールで開始されたポリ(1-ラクチド-コ-d, 1-ラクチド)コポリマー (PLGPD)、80/20 P(1)L(d, 1)LPD

標記生成物を実施例V (a) の手順に従って得た。ただし、239.09 gの1-ラクチド、59.77 gのd, 1-ラクチド (Purac Biochem, Arkelsedijk、オランダ) 及び1.14 gのプロパンジオールを用い、トルエン中0.1 Mの2-エチルヘキサン酸第一スズ溶液3.96 ml（化学量論比200 ppm）を加えた。アモルファスコポリマーが得られた。該コポリマーはGPCにより分子量(MW) 約22, 320 g/molを有することがわかった。DSCにより48°Cでガラス転移を示した。

【0090】

精製—実施例V (a)、V (b)、及びV (c) をそれぞれ、アセトニトリル (Labscan, ダブリン, アイルランド) 中30% (W/W) 溶液の噴霧によって洗浄した。噴霧は、循環浴に接続されたジャケット付き6 L反応容器中の約2°Cに冷却された脱イオン水中に8 ml/分で行い、Heidolph pHスタラー (Heidolph Elektro GmbH, Kelheim, ドイツ) を用い、約350 rpmで攪拌した。溶液をVibracell VC50 Atomizationノズル (Bioblock, Illkirch、フランス) に、Masterflexポンプ (Cole Parmer Instrument Co., Niles, イリノイ州、U.S.A.) を用いて供給し、噴霧は音波処理周波数12 kHzを用いて達成した。得られた分散物をWhatman No. 1 (直径24 cm)ろ紙 (Whatman Int'l. Ltd., Maidstone, ケント州, U.K.) 上にろ過し、ろ過ケーキを脱イオン水で

濯ぎ、凍結し、Edwards SuperModulyo Lyophilizer (Edwards, Crawley, ウエストサセックス州, U. K.) 中で凍結乾燥させた。

【0091】

加熱速度10°C/分で、TA DSC912S (TA Instrument, New Castle, デラウェア州, USA) を用いてDSCにより純度を確認した。実施例V (a)、V (b)、V (c) 及びV (d) について、それぞれ44°C、49°C、45°C及び48°Cのガラス転移 (Tg) を示した。

【0092】

実施例VI

ペプチド付加陽イオン交換体の製造

実施例VI (a) : ペプチドA (p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂、LHRH類似体) の付加—実施例I (a)、I (b)、I (c) 及びII (a) の各ナトリウム塩4 g を、70mlの脱イオン水中に溶解したペプチドA (Kineton Ltd., ダブリン、アイルランド) の遊離塩基1.33gを含む溶液中に分散させた。分散物は、室温で攪拌しながら約2時間インキュベートした後、直径9cmのWhatman No. 1ろ紙 (Whatman Int'l. Ltd., Maidstone, ケント州, U. K.) 上にろ過した。ろ過ケーキをさらに脱イオン水で濯ぎ、凍結し、Edwards SuperModulyo (Edwards, Crawley, ウエストサセックス州, U. K.) 中で凍結乾燥させた。次に、サンプルを窒素について元素分析で分析し、結合したペプチドAの量を測定した。以下の結果が得られた。

【0093】

【表1】

実施例	CEの 実施例番号	CEポリマー	結合したペプチドAのwt.%
VI(a)(i)	I(a)	7/1 PGCA	24.52%
VI(a)(ii)	I(b)	10/1 PGCA	12.60%
VI(a)(iii)	I(c)	15/1 PGCA	19.29%
VI(a)(iv)	III(a)	10/1 PGTa	17.60%

実施例VI (b) : ペプチドB (H-β-D-N a 1-C y s-T y r-D-T r p-L y s-V a 1-C y s-T h r-N H₂、2個のC y sはジスルフィド結合によって結合、ソマトスタチン類似体) の付加—実施例VI (b) の手順に従い、実施例I (a)、I (b)、I (c) 及びII (a) の各ナトリウム塩4 gと、ペプチドB (Kinerton Ltd., ダブリン、アイルランド) の遊離塩基1.33 gを用いて、ペプチドBをその上に■定化した実施例I (a)、I (b) 及びI (c) の結合マイクロ粒子を得た。サンプルを窒素含有量について元素分析で分析し、結合したペプチドBの量を測定した。得られた結果を以下に示す。

【0094】

【表2】

実施例	CEの 実施例番号	CEポリマー	結合したペプチドBのwt.%
VI(b)(i)	I(a)	7/1 PGCA	25.20%
VI(b)(ii)	I(b)	10/1 PGCA	13.10%
VI(b)(iii)	I(c)	15/1 PGCA	19.64%
VI(b)(iv)	III(a)	10/1 PGTa	14.23%

実施例VII

噴霧による被包されたポリペプチド付加陽イオン交換体の製造

以下に示すようにポリペプチド付加陽イオン交換体を被包コポリマーのアセトニトリル (Labskan, ダブリン、アイルランド) 溶液中に分散した。この分散は、Ultraturrax T25 (IKA, Staufen, ドイツ) を用い約9,500 rpmで約5分間ホモジナイズすることによって達成され

た。被包コポリマー／アセトニトリル溶液の濃度は12.5%～25% (W/W) の範囲で、被包コポリマー対ポリペプチド付加陽イオン交換体の比率は重量比で1:1～1.3:1の範囲であった。

【0095】

分散後、分散物を2ml/分の流量に設定されたセラミックピストンポンプ (FMI, Oyster Bay, N.Y., USA) を用い、音波処理周波数が16kHzのVibratCell VC50噴霧ノズル (Bioblock, Illkirch, フランス) に供給した。ノズルに達すると分散物は、ドライアイスペレット (A.I.G., ダブリン、アイルランド) を加えて約-80°Cに冷却されたイソプロピルアルコール (IPA) (Labscan, ダブリン、アイルランド) 中に噴霧された。IPAは捕集非溶媒として作用し、Heidolphスター (Heidolph Elektro GmbH, Kelheim, ドイツ) を用い、約300rpmで攪拌した。噴霧が完了すると、全分散物を約10°C～約室温にまで解凍させた。次に、被包マイクロ粒子をWhatman No. 1ろ紙 (Whatman International Ltd., Maidstone, ケント州, U.K.) 上に真空ろ過した。ろ過ケーキを脱イオン水で濯ぎ、凍結し、Edwards SuperModulyo凍結乾燥器 (Edwards, Crawley, ウエストサセックス州, U.K.) 中で凍結乾燥させた。得られた被包マイクロ粒子は、Malvern Mastersizer/E (Malvern, Worcestershire, U.K.) と水中1% Tween 20を分散剤として用いて粒径の分析をした。また、被包マイクロ粒子は窒素含有量についても元素分析によって分析し、ペプチド含有量を測定した。以下の表に、実施した様々な被包実験を示す。

【0096】

【表3】

実施例番号	ペプチド付加CE: 実施例番号	被包コポリマー実施例番号	アセトニトリル中被包コポリマーの濃度(W/W)	被包コポリマー:ペプチド付加CE	粒子の平均直径	ペプチド付加のwt.%
VII(a)	VI(a)(ii)	V(a)	24.31%	1:1	122.14μm	5.38% ペプチドA
VII(b)	VI(a)(ii)	V(b)	22.41%	1:1	120.15μm	6.38% ペプチドA
VII(c)	VI(a)(iii)	V(b)	12.5%	1:1	79.30μm	7.76% ペプチドA
VII(d)	VI(a)(iii)	V(c)	12.5%	1:1	77.85μm	8.93% ペプチドA
VII(e)	VI(a)(iv)	V(c)	14.95%	1:1	136.74μm	8.75% ペプチドA
VII(f)	VI(a)(i)	V(c)	14.92%	1.27:1	80.59μm	10.31% ペプチドA
VII(g)	VI(b)(ii)	V(a)	25.37%	1:1	140.58μm	2.63% ペプチドB
VII(h)	VI(b)(ii)	V(b)	20%	1.15:1	96.77μm	5.98% ペプチドB
VII(i)	VI(b)(iii)	V(b)	12.5%	1:1	102.56μm	7.69% ペプチドB
VII(j)	VI(b)(iii)	V(c)	12.5%	1:1	83.72μm	7.90% ペプチドB
VII(k)	VI(b)(iv)	V(c)	14.95%	1:1	135.14μm	6.69% ペプチドB
VII(l)	VI(b)(i)	V(c)	14.92%	1.26:1	123.18μm	10.11% ペプチドB

すべてのサンプルは、180 μmシーブ (Bioblock, Illkirch, フランス) のふるいにかけてからインビボ及び／又はインビトロ試験を実施した。

【0097】

結合マイクロ粒子又は被包マイクロ粒子は、以下の方法によって結合ペプチド又は結合タンパク質の放出速度を評価するインビトロ試験を実施することができる。約50mgの質量を有する結合マイクロ粒子又は被包マイクロ粒子の一部を連続フローセルシステムに入れる。このシステムではpH約7.2及び約37°Cの緩衝リン酸塩溶液が約4.5ml/時の速度で結合マイクロ粒子又は被包マイクロ粒子の全体に流れている。放出された薬物を含む緩衝液のサンプルを、約4°Cで■収し、1又は2■の間隔でペプチド又はタンパク質濃度について分析する。各マイクロ粒子の放出特性を2週間にわたって測定する。

【0098】

結合マイクロ粒子又は被包マイクロ粒子は、以下の方法によってインビボ系における結合ペプチド又は結合タンパク質の放出速度を評価する試験を実施することができる。サンプルを雄のWistarラット (Bioresources,

Trinity College、ダブリン、アイルランド)に、大腿部への筋肉内注射により投与する。懸濁媒体は、塩類溶液中3%のカルボキシメチルセルロースと1%のTween 20からなる。ペプチドA付加サンプルについては有効等価投与量が $40\text{ }\mu\text{g}/\text{Kg}$ である。ペプチドB付加サンプルは $1\text{ mg}/\text{Kg}$ である。サンプルは心穿刺によって採取し、血漿ペプチド濃度をペプチドA及びペプチドBに特異的なラジオイムノアッセイ(RIA)によってモニタする。ペプチドA付加サンプルの場合(ペプチドAはLHRH類似体)、テストステロンRIAもテストステロン抑制をモニタするのに使用される。懸濁媒体の代替として、特定の例ではゲルフォーマー(gel-formers)も使用できる。結果を以下の表A及びBに示す。

【0099】

【表4】

表A

ペプチドA 実施例	ペプチドA (>150 pg/ml) 日	テストステロン (<1ng/ml) 日
VII(a)	20	21
VII(b)	10	10
VII(c)	2	11
VII(d)	2	11
VII(e)	2	13
VII(f)	2	16
VII(a)ゲルフォーマー中	25	44

【0100】

【表5】

表B

ペプチドB 実施例	ペプチドB (>1000 pg/ml) 日
VII(g)	試験せず
VII(h)	試験せず
VII(i)	試験せず
VII(j)	15
VII(k)	10
VII(l)	10

実施例VIII

VIII (a) : 溶媒としてアセトニトリル及び非溶媒として室温のIPAを使用する噴霧

約1.06gの実施例I(c)の陽イオン交換体(ポリペプチドに結合していない)を、実施例V(a)の被包コポリマーのアセトニトリル(Labskan, ダブリン、アイルランド)中25.24% (W/W) 溶液に、陽イオン交換体対被包コポリマーの比が重量比で約1.03:1になるように分散させた。この分散は、Ultra-turrax T25 (IKA, Staufen, ドイツ) を用い約9,500 rpmで約5分間ホモジナイズすることによって達成された。

【0101】

分散後、分散物を2ml/分の流量に設定されたセラミックピストンポンプ(FMI, Oyster Bay, N.Y., USA)を用い、音波処理周波数が16kHzのVibra-Cell VC50噴霧ノズル(Bioblock, Illkirch、フランス)に供給した。ノズルに達すると分散物は、室温(17~22°C)のIPA(Labskan, ダブリン、アイルランド)中に噴霧された。このIPAは捕集非溶媒として作用し、Heidolphスター(Heidolph Elektro GmbH, Kelheim, ドイツ)を用い、約300 rpmで攪拌された。噴霧が完了すると、分散物はさらに60分間室温で攪拌され、その後被包マイクロ粒子をWhatman No. 1ろ紙(Wh

atman Int'l. Ltd., Maidstone, ケント州, U. K.) 上に真空ろ過することによって■収した。ろ過ケーキを脱イオン水で濯ぎ、凍結し、Edwards SuperModulyo凍結乾燥器 (Edwards, Crawley, ウエストサセ克斯州, U. K.) 中で凍結乾燥させた。得られた粒子は、Malvern Mastersizer/E (Malvern, Worcs., U. K.) と水中 1% Tween 20 を分散剤として用いて粒径について分析した。得られた粒子は平均粒径 (d (0.5)) 84.75 μm を有していた。

【0102】

実施例VIII (b) : 溶媒として酢酸エチル及び非溶媒として室温のIPAを使用する噴霧

噴霧は実質的に実施例VIII (a) の手順に従って実施したが、実施例V (a) の被包コポリマーの酢酸エチル (Riedel-de Haen, Seelze, ドイツ) 中 24.88% (W/W) 溶液に分散させた約 0.99 g の実施例I (c) の陽イオン交換体 (ポリペプチドに結合していない) を使用し、陽イオン交換体対被包コポリマーの比が重量比で約 0.96 : 1 になるように分散させた。得られた粒子は平均粒径 (d (0.5)) 100.56 μm を有していた。

【0103】

実施例VIII (c) : 溶媒として酢酸エチル及び高周波数プローブを使用する噴霧

約 1.02 g の実施例 I (c) の陽イオン交換体 (ポリペプチドに結合していない) を、実施例V (a) の被包コポリマーの酢酸エチル (Riedel-de Haen) 中 15.14% (W/W) 溶液に、陽イオン交換体対被包コポリマーの比が重量比で約 1.05 : 1 になるように分散させた。この分散は、Ultra-turrax T25 (IKA, Staufen, ドイツ) を用い約 9,500 rpm で約 5 分間ホモジナイズすることによって達成された。

【0104】

分散後、分散物を 5 ml / 分の流量に設定されたセラミックピストンポンプ (FMI, Oyster Bay, N. Y., USA) を用い、超音波周波数の設

定が約34.6 kHzのMartin Walter 400 GSIPネブライザ(Sodeva, Le Bouget du Lac, フランス)に供給した。ノズルに達すると分散物は、ドライアイスペレット(A. I. G., ダブリン、アイルランド)を加えて約-77°Cに冷却されたIPA(Labscan, ダブリン、アイルランド)中に噴霧された。このIPAは捕集非溶媒として作用し、Heidolphスター(Heidolph Elektro GmbH, Kelheim, ドイツ)を用い、約300 rpmで攪拌された。噴霧が完了すると、被覆粒子をWhatman No. 1ろ紙(Whatman Intl. Ltd., Maidstone, ケント州, U. K.)上に真空ろ過することによって■収した。ろ過ケーキを脱イオン水で濯ぎ、凍結し、Edwards SuperModulyo凍結乾燥器(Edwards, Crawley, ウエストサセックス州, U. K.)中で凍結乾燥させた。得られた粒子は、Malvern Mastersizer/E(Malvern, Worcs., U. K.)と水中1% Tween 20を分散剤として用いて粒径について分析した。得られた粒子は平均粒径(d(0.5))95.69 μmを有していた。

【0105】

実施例IX

C Eへの結合とそれに続くソマトスタチン類似体のペプチドC及びDの被包

実施例IX (a) : ペプチドCの付加

実施例I(c)のナトリウム塩約1.01 gを、40 mlの脱イオン水に溶解したペプチドCの遊離塩基0.25 gを含む溶液に分散した。ペプチドCは、N-ヒドロキシエチルピペラジニルーアセチル-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂の構造を有し、2個のCys残基はジスルフィド結合によって結合している(Kinerton Ltd., ダブリン、アイルランド)。分散物は、攪拌しながら約2時間インキュベートした後直徑9 cmのWhatman No. 1ろ紙(Whatman Intl. Ltd., Maidstone, ケント州, U. K.)上に真空ろ過した。ろ過ケーキを脱イオン水で濯ぎ、凍結し、Edwards SuperModulyo(Edwards, Crawley, ウエストサセックス州, U. K.)中

で凍結乾燥させた。次に、サンプルを窒素分析に送り、結合したペプチドの量を測定した。20.21%であった。

【0106】

実施例IX (b) : ペプチドDの付加

実施例IX (a) の手順を使用したが、実施例I (c) のナトリウム塩約2.04 gを、80 mlに溶解したペプチドDの遊離塩基0.51 gを含む溶液に分散させたものを使用した。ペプチドDは、N-ヒドロキシエチルピペラジニル-エチルスルホニル-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂の構造を有し、2個のCys残基はジスルフィド結合によつて結合している (Kineton Ltd., ダブリン、アイルランド)。次に、サンプルを窒素分析に送り、結合したペプチドの量を測定した。19.53%であった。

【0107】

実施例X

実施例IX (a) 及びIX (b) の結合マイクロ粒子を実施例VIIに記載のように被包し、次の結果が得られた。

【0108】

【表6】

実施例番号	ペプチド付加CE	被覆コポリマー	アセトニトリル中被覆コポリマー濃度 (W/W)	被覆コポリマー:ペプチド付加CE	平均粒径 (μm)	ペプチド付加のwt. %
X(a)	IX(a)	V(c)	12.51%	1:1	83.33	9.48%
X(b)	IX(b)	V(c)	12.48%	0.98:1	72.15	8.87%
X(c)	IX(b)	V(d)	12.35%	0.98:1	86.03	6.74%

実施例X I

ゲルフォーマー製剤の製造

5 mlのシリングバレル中で約20 rpmで約10分間機械的マイクロミキサーを使用して、実施例VII (a) (0.3 g) の被包マイクロ粒子を液体ゲルフォーマー (双方が米■特許第5, 612, 052号明細書に開示されている実

施例Iの「A」成分と実施例IIIのC成分との50/50混合物2.0m1)と混合した。乾燥熱によりゲルフォーマーを予備滅菌し、層流フード中で滅菌した搅拌器を使用して混合を行った。(プランジャーを導入した後) 5m1シリンジから製剤をより小さなシリンジ(製剤を投与するのに使用する目的)中に押し出した。光学顕微鏡を用いて製剤の均質性を検討した。前記より小さなシリンジを乾燥パッケージ中に貯蔵するために組立、使用まで約4℃に保った。

【手続補正書】

【提出■】平成12年8月31■(2000.8.31)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項■名】特許請求の範■

【補正方法】変更

【補正内容】**【特許請求の範■】**

【請求項1】 吸收可能なヘテロ鎖ポリマーコアと、当該吸收可能なヘテロ鎖ポリマーコア上に■定化された一つ以上のペプチド、一つ以上のタンパク質又はそれらの組合せとを含む結合マイクロ粒子であって、各ペプチドは、成長ホルモン放出ペプチド(G H R P)、黄体形成ホルモン放出ホルモン(L H R H)、ソマトスタチン、ボンベシン、ガストリン放出ペプチド(G R P)、カルシトニン、ブラジキニン、ガラニン、メラニン細胞刺激ホルモン(M S H)、成長ホルモン放出■子(G R F)、アミリン、タキキニン類、セクレチン、副■状腺ホルモン(P T H)、エンケファリン、エンドセリン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド(C G R P)、ニューロメジン類、副■状腺ホルモン関連タンパク質(P T H r P)、グルカゴン、ニューロテンシン、副腎皮質刺激ホルモン(A C T H)、ペプチドYY(P Y Y)、グルカゴン放出ペプチド(G L P)、バソアクティブ・インテスティナル・ペプチド(V I P)、下垂体細胞アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド(P A C A P)、モチリン、サブスタンスP、ニューロペプチドY(N P Y)、T S H、並びにそれらの類似体及びフラグメント、又はそれらの製薬学的に許容しうる塩からなる群から独立して選ばれ；各タンパク質は、成長ホルモン、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激■子、顆粒球マクロファージコロニー刺激■子及びインターフェロンからなる群から独立して選ばれる、前記結合マイクロ粒子。

【請求項2】 前記ペプチド、タンパク質若しくはそれらの組合せ又はそれらの製薬学的に許容できる塩が、結合マクロ粒子全質量の0.1%~30%を含む、請求項1に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項3】 前記吸収可能なヘテロ鎖ポリマーCがグリコール酸単位を含む、請求項2に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項4】 前記吸収可能なヘテロ鎖ポリマーCがさらにクエン酸残基を含む、請求項3に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項5】 グリコール酸単位対クエン酸残基の比が約7：1～約20：1である、請求項4に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項6】 吸収可能なポリマーCがさらに酒石酸残基を含む、請求項3に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項7】 グリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7：1～約20：1である、請求項6に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項8】 吸収可能なヘテロ鎖ポリマーCがさらにリンゴ酸残基を含む、請求項3に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項9】 グリコール酸単位対リンゴ酸残基の比が約7：1～約20：1である、請求項8に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項10】 前記グリコール酸単位がカルボキシル成分で末端を形成する、請求項3に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項11】 前記グリコール酸単位がアミン成分で末端を形成する、請求項3に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項12】 吸収可能な被包用ポリマー内に被包された一つ以上の結合マイクロ粒子を含む被包マイクロ粒子であって、前記結合マイクロ粒子が吸収可能なヘテロ鎖ポリマーCと、当該吸収可能なヘテロ鎖ポリマーC上に固定化された一つ以上のペプチド、一つ以上のタンパク質又はそれらの組合せとを含み、各ペプチドは、成長ホルモン放出ペプチド(G H R P)、黄体形成ホルモン放出ホルモン(L H R H)、ソマトスタチン、ボンベシン、ガストリン放出ペプチド(G R P)、カルシトニン、ブラジキニン、ガラニン、メラニン細胞刺激ホルモン(M S H)、成長ホルモン放出因子(G R F)、アミリン、タキキニン類、セクレチン、副甲状腺ホルモン(P T H)、エンケファリン、エンドセリン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド(C G R P)、ニューロメジン類、副甲状腺ホルモン関連タンパク質(P T H r P)、グルカゴン、ニューロテンシン、副腎皮質

刺激ホルモン（A C T H）、ペプチドYY（P Y Y）、グルカゴン放出ペプチド（G L P）、バソアクティブ・インテスティナル・ペプチド（V I P）、下垂体細胞アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド（P A C A P）、モチリン、サブスタンスP、ニューロペプチドY（N P Y）、T S H、並びにそれらの類似体及びフラグメント、又はそれらの製薬学的に許容しうる塩からなる群から独立して選ばれ；各タンパク質は、成長ホルモン、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激因子、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子及びインターフェロンからなる群から独立して選ばれ、前記吸收可能なヘテロ鎖ポリマーが、グリコール酸単位を含む、前記被包マイクロ粒子。

【請求項13】 前記ペプチド、タンパク質若しくはそれらの組合せ又はそれらの製薬学的に許容できる塩が、結合マクロ粒子全質量の0.1%～30%を含み、前記吸收可能なヘテロ鎖ポリマーがさらにクエン酸残基、酒石酸残基又はリンゴ酸残基を含む、請求項12に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項14】 グリコール酸単位対クエン酸残基、酒石酸残基又はリンゴ酸残基の比がそれぞれ約7：1～約20：1であり、前記グリコール酸単位がカルボキシル成分又はアミン成分で末端を形成する請求項13に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項15】 前記吸收可能な被包用ポリマーが、
 (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
 (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
 (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
 (d) 1-ラクチドベースの単位とd, 1-ラクチドベースの単位
 を含む、請求項14に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項16】 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75：25～約90：10である、請求項15に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項17】 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80：20である、請求項15に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項18】 d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比は約75：25～約90：10である、請求項15に記載の被包マイクロ粒

子。

【請求項19】 吸收可能な被包用ポリマーが被包マイクロ粒子の全質量の5～70%を占める、請求項14に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項20】 吸收可能な被包用ポリマーが被包マイクロ粒子の全質量の20～60%を占める、請求項19に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項21】 吸收可能な被包用ポリマーが被包マイクロ粒子の全質量の30～50%を占める、請求項20に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項22】 請求項1に記載の結合マイクロ粒子及び製薬学的に許容できるキャリアを含む医薬組成物。

【請求項23】 請求項1に記載の結合マイクロ粒子、非水性吸収可能なゲル形成性液体ポリエステル及び場合により製薬学的に許容できるキャリアを含む医薬組成物。

【請求項24】 請求項12に記載の被包マイクロ粒子及び製薬学的に許容できるキャリアを含む医薬組成物。

【請求項25】 請求項12に記載の被包マイクロ粒子、非水性吸収可能なゲル形成性液体ポリエステル及び場合により製薬学的に許容できるキャリアを含む医薬組成物。

【請求項26】 ペプチドがLHRH類似体である、請求項4に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項27】 前記吸収可能なヘテロ鎖ポリマーコアのグリコール酸単位対クエン酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記LHRH類似体が、p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂である、請求項26に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項28】 ペプチドがLHRH類似体である、請求項6に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項29】 グリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記LHRH類似体が、p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂である、請求項28に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項30】 ペプチドがソマトスタチン類似体である、請求項4に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項31】 グリコール酸単位対クエン酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記ソマトスタチン類似体が、H- β -D-Na1-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Va1-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか、N-ヒドロキシエチルピペラジニルーアセチル-D-Phen-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか又はN-ヒドロキシエチルピペラジニルーエチルスルホニル-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合している、請求項30に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項32】 ペプチドがソマトスタチン類似体である、請求項6に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項33】 グリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7：1～約20：1であり、前記ソマトスタチン類似体が、H- β -D-Na1-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Va1-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか、N-ヒドロキシエチルピペラジニルーアセチル-D-Phen-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか又はN-ヒドロキシエチルピペラジニルーエチルスルホニル-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合している、請求項32に記載の結合マイクロ粒子。

【請求項34】 吸收可能な被包用ポリマー内に被包されている請求項26に記載の一つ以上の結合マイクロ粒子を含む被包マイクロ粒子であって、前記吸收可能な被包用ポリマーが、

- (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、

(c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
 (d) 1-ラクチドベースの単位と d, 1-ラクチドベースの単位
 を含む、被包マイクロ粒子。

【請求項35】 前記吸収可能なポリマーコアのグリコール酸単位対ケエン酸残基の比が約7:1～約20:1であり、前記LHRH類似体が、p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂であり、

(a) 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25～約90:10であり、
 (b) d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25～約90:10であり、そして
 (c) 1-ラクチドベースの単位対 d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80:20である、請求項34に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項36】 吸収可能な被包用ポリマー内に被包されている請求項28に記載の一つ以上の結合マイクロ粒子を含む被包マイクロ粒子であって、前記吸収可能な被包用ポリマーが、

(a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
 (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
 (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
 (d) 1-ラクチドベースの単位と d, 1-ラクチドベースの単位
 を含む、被包マイクロ粒子。

【請求項37】 前記吸収可能なポリマーコアのグリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7:1～約20:1であり、前記LHRH類似体が、p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂であり、

(a) 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25～約90:10であり、
 (b) d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25～約90:10であり、そして

(c) 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80:20である、請求項36に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項38】 吸収可能な被包用ポリマー内に被包されている請求項30に記載の一つ以上の結合マイクロ粒子を含む被包マイクロ粒子であって、前記吸収可能な被包用ポリマーが、

- (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
- (d) 1-ラクチドベースの単位とd, 1-ラクチドベースの単位を含む、被包マイクロ粒子。

【請求項39】 前記吸収可能なポリマーコアのグリコール酸単位対クエン酸残基の比が約7:1～約20:1であり、前記ソマトスタチン類似体が、H- β -D-Na1-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Va1-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか、N-ヒドロキシエチルピペラジニルーアセチル-D-Phen-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか又はN-ヒドロキシエチルピペラジニルーエチルスルホニル-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合し、

- (a) 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25～約90:10であり、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25～約90:10であり、そして
- (c) 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80:20である、請求項38に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項40】 請求項32に記載の一つ以上の結合マイクロ粒子および吸収可能な被包用ポリマーを含む被包マイクロ粒子であって、前記吸収可能な被包用ポリマーが、

- (a) 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位とグリコリドベースの単位、
- (c) d, 1-ラクチドベースの単位、又は
- (d) 1-ラクチドベースの単位と d, 1-ラクチドベースの単位

を含む、被包マイクロ粒子。

【請求項41】 前記吸収可能なポリマーのグリコール酸単位対酒石酸残基の比が約7:1～約20:1であり、前記ソマトスタチン類似体が、H- β -D-Na 1-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか、N-ヒドロキシエチルピペラジニル-アセチル-D-Phen-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合しているか又はN-ヒドロキシエチルピペラジニル-エチルスルホニル-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂であり、2個のCys残基がジスルフィド結合によって結合し、

- (a) 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25～約90:10であり、
- (b) d, 1-ラクチドベースの単位対グリコリドベースの単位の比が約75:25～約90:10であり、そして
- (c) 1-ラクチドベースの単位対d, 1-ラクチドベースの単位の比が約80:20である、請求項40に記載の被包マイクロ粒子。

【請求項42】 結合マイクロ粒子を吸収可能な被包用ポリマーで被包する工程を含む、請求項12に記載の被包マイクロ粒子の製造法。

【請求項43】 前記吸収可能な被包用ポリマーと溶媒とを含む溶液中の前記結合マイクロ粒子からなる分散物を予備冷却した媒体上に滴下することを含み、当該媒体が前記吸収可能な被包用ポリマーの溶媒ではない、請求項42に記載の方法。

【請求項44】 前記吸収可能な被包用ポリマーの溶液が約5%～30%の当該吸収可能な被包用ポリマーから構成され、予備冷却した媒体が2個以上の炭

素原子を有するアルコールであり、媒体の温度が室温～約-80℃である、請求項43に記載の方法。

【請求項45】 前記予備冷却媒体の温度が約-60℃～-80℃であり、媒体がイソプロピルアルコールである、請求項44に記載の方法。

【請求項46】 エマルション技術を使用して結合マイクロ粒子を吸収可能な被包用ポリマーで被包する工程を含む、請求項12に記載の被包マイクロ粒子の製造法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項■名】0002

【補正方法】変更

【補正内容】

【0002】

多くの薬物送達システムが開発され、試験されて薬剤組成物のインピボにおける制御放出に利用されている。例えば、ポリ(DL-乳酸)、ポリ(グリコール酸)、ポリ(ϵ -カプロラクトン)及び様々な他のコポリマー類のようなポリエステル類が、プロゲステロンのような生物学的に活性な分子の放出に使用してきた。これらはマイクロカプセル、フィルム又はロッドの形態であった(M. Chasin及びR. Langer、編集者、薬物送達システムとしての生分解性ポリマー(Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems)、Dekker, NY 1990)。ポリマー／治療薬組成物を、例えば皮下又は筋肉内に埋め込むと、治療薬が所定の時間にわたって放出される。このような生体適合性のある生分解性ポリマーシステムは、捉え込んだ治療薬をポリマーマトリックスから拡散させるように設計されている。治療薬が放出されると、ポリマーはインピボで分解するのでインプラントの外科的除去が不要となる。ポリマーの分解に寄与する要■はよくわかっていないが、ポリエステルに関するそのような分解は、ポリマー成分の非酵素的自己触媒加水分解にエステル結合が利用されることで調節されているのだろうと考えられている。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A61K47/48		Int'l. Appl. No. PCT/US 99/01180
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by class location symbols) IPC 6 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	<p>DATABASE CHEMABS CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US DN=129:235478, CORBETT, J. ET AL: "Injectable, absorbable gel-formers for controlled release of antibiotics" XP002106940 see abstract & PROC. INT. SYMP. CONTROLLED RELEASE BIOACT. MATER. (1998), 25TH, 38-39 CODEN: PCRMEY; ISSN: 1022-0178,</p> <p>A EP 0 626 170 A (SANDOZ AG ;SANDOZ LTD (CH); SANDOZ AG (DE)) 30 November 1994 see claims</p>	1
	-/-	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document susceptible to an or after the International filing date</p> <p>"L" document which may prove useful as priority, claimed or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (see specification)</p> <p>"D" document referring to an oral disclosure, see, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but which understanding the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or nonobvious if the document taken alone</p> <p>"V" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"K" document member of the same patent family</p>		
Date of the earliest completion of the International search 23 June 1999		Date of mailing of the International search report 06/07/1999
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 8018 PASENDALEN 2 NL-2290 HV RUITWIJK Tel. (+31-70) 3496040, Tel. 21 651 4904 Fax (+31-70) 3496016		Authorized officer Berete, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US 99/01180

C (Continued) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 95 03356 A (GREF RUXANDRA ; DOMB ABRAHAM J (IL); PERACCHIA MARIA TERESA (IT); M) 2 February 1995 see page 7, line 11 - line 32; claims -----	1-45
X		
Y	WO 92 11844 A (ENZYTECH INC) 23 July 1992 see page 8, paragraph 4; claims; examples 3-5 -----	1 1-45

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Intern. Appl. No.
PCT/US 99/01180

Patent document cited in search report	Publication date		Patent family member(s)	Publication date
EP 0626170 A	30-11-1994		CA 2123144 A JP 6340543 A	11-11-1994 13-12-1994
WO 9503356 A	02-02-1995		US 5565215 A US 5543158 A US 5578325 A CA 2167920 A CA 2167921 A EP 0710261 A EP 0712421 A JP 9504308 T JP 9504042 T WO 9503357 A	15-10-1996 06-08-1996 26-11-1996 02-02-1995 02-02-1995 08-05-1996 22-05-1996 28-04-1997 22-04-1997 02-02-1996
WO 9211944 A	23-07-1992		AU 653771 B AU 9165291 A CA 2099376 A EP 0565618 A JP 7503700 T	13-10-1994 17-08-1992 04-07-1992 20-10-1993 20-04-1995

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	マーク(参考)
A 61 K 38/04		A 61 K 37/30	
47/48		37/43	
(81) 指定 ■ E P (A T, B E, C H, C Y, D E, D K, E S, F I, F R, G B, G R, I E, I T, L U, M C, N L, P T, S E), O A (B F, B J , C F, C G, C I, C M, G A, G N, G W, M L, M R, N E, S N, T D, T G), A P (G H, G M, K E, L S, M W, S D, S Z, U G, Z W), E A (A M , A Z, B Y, K G, K Z, M D, R U, T J, T M) , A L, A M, A T, A U, A Z, B A, B B, B G, B R, B Y, C A, C H, C N, C U, C Z, D E, D K, E E, E S, F I, G B, G E, G H, G M, H R , H U, I D, I L, I N, I S, J P, K E, K G, K P, K R, K Z, L C, L K, L R, L S, L T, L U, L V, M D, M G, M K, M N, M W, M X, N O , N Z, P L, P T, R O, R U, S D, S E, S G, S I, S K, S L, T J, T M, T R, T T, U A, U G, U S, U Z, V N, Y U, Z W F ターム(参考) 4C076 AA62 AA64 AA95 BB15 BB16 BB32 CC30 CC41 EE12 FF02 FF32 GG03 GG06 4C084 AA02 BA17 BA44 DA21 DB01 DB07 DB09 DB11 DB14 DB21 DB31 DB32 DB35 DB38 DB42 MA02 NA13 NA14			